

**EFFECTIVIDAD BACTERIOSTÁTICA DE DOS TIPOS DE HIDROXIDO DE  
CALCIO CON DOS VEHÍCULOS DIFERENTES FRENTE AL *Enterococcus*  
*faecalis*.**



**YEYMI PAOLA BOHORQUEZ  
PAULA MARCELA CAMACHO  
RUTH TATIANA PEÑA  
ANGIE LIZETH REYES  
IVONNE NATHALIE ROBAYO**

**Trabajo para optar el título de odontólogo**

**INSTITUCION UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA  
COLEGIO ODONTOLOGICO  
PROYECTO DE INVESTIGACION  
BOGOTA D.C.  
II - 2010**

EFFECTIVIDAD BACTERIOSTÁTICA DE DOS TIPOS DE HIDROXIDO DE  
CALCIO CON DOS VEHÍCULOS DIFERENTES FRENTE AL *Enterococcus*  
*faecalis*.

YEYMI PAOLA BOHORQUEZ  
PAULA MARCELA CAMACHO  
RUTH TATIANA PEÑA  
ANGIE LIZETH REYES  
IVONNE NATHALIE ROBAYO

ASESOR CIENTÍFICO:

DR. VICTOR JAVIER CHAMORRO  
ODONTÓLOGO.  
ESPECIALISTA EN ENDODONCIA.  
MAGÍSTER EN EDUCACIÓN  
DIRECTOR ÁREA DE ENDODONCIA COLEGIO ODONTOLÓGICO

ASESOR METODOLÓGICO:

DRA. PIEDAD MALAVER  
ODONTOLOGA  
MAGISTER EN BIOLOGIA CON ENFASIS EN GENETICA HUMANA

ASESOR EXTERNO:

DIANA PATRICIA SOSA URREGO  
MICROBIÓLOGA LABORATORIO LEMA  
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES.

INSTITUCION UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA  
COLEGIO ODONTOLOGICO  
PROYECTO DE INVESTIGACION  
BOGOTA D.C.  
II – 2010

## **DEDICATORIA**

Dedicamos este triunfo primero a Dios quien nos guió y permitió iniciar este compromiso propio y con la comunidad odontológica.

A nuestro padres, seres luchadores, que de corazón nos dieron su apoyo económico y moral.

Les dedicamos este proyecto a nuestros asesores, guías incondicionales, por sembrar en nosotros la inquietud de la investigación y por permitirnos contribuir en el diagnóstico clínico y tratamiento oportuno en la odontología.

## **AGRADECIMIENTOS**

Queremos agradecer a Dios por brindarnos la posibilidad de culminar con este proyecto, por darnos la sabiduría necesaria para trabajar como un grupo y tolerar cada uno de los obstáculos que se interponían en el camino.

A nuestros padres por su apoyo incondicional, amor, confianza, entrega, esfuerzo y dedicación durante este largo y arduo proceso. Gracias a su respaldo logramos escalar paso a paso la montaña del éxito.

Al Doctor Víctor Chamorro, por su aporte y guía intelectual y científica.

A la Doctora Piedad Malaver, por su incansable lucha y esfuerzo para el desarrollo y elaboración de este proyecto.

A la Doctora Clara López de Mesa, por su aporte estadístico en la investigación. Agradecemos la participación y lectura de análisis y resultados, realizados por la Doctora Diana Patricia Sosa, Microbióloga de la Universidad de los Andes.



## **TABLA DE CONTENIDO**

|                                          |               |
|------------------------------------------|---------------|
| <b>INTRODUCCION</b>                      | <b>11.</b>    |
| <b>1. ASPECTOS TEÓRICO – CIENTÍFICOS</b> | <b>12-40.</b> |
| 1.1 Planteamiento del problema           | 12.           |
| 1.2 Justificación.                       | 12-13.        |
| 1.3 Impacto.                             | 13.           |
| 1.4 Marco teórico.                       | 13-39.        |
| 1.5 Objetivos                            | 39-40.        |
| 1.5.1 Objetivo general                   | 39.           |
| 1.5.2 Objetivos específicos              | 39-40.        |
| <b>2. ASPECTOS METODOLÓGICOS</b>         | <b>40-52.</b> |
| 2.1 Tipo de estudio                      | 40.           |
| 2.2 Objeto de estudio.                   | 40.           |
| 2.3 Muestreo.                            | 40.           |
| 2.4 Variables.                           | 41-42.        |
| 2.5 Instrumento de recolección de datos. | 42.           |
| 2.6 Procedimiento.                       | 42-52.        |
| 2.6.1 Antibiógrama                       | 43-46.        |
| 2.6.2 Concentración Mínima Inhibitoria   | 46-52.        |
| 2.7 Método estadístico.                  | 52.           |

|                                      |                |
|--------------------------------------|----------------|
| <b>3. RESULTADOS</b>                 | <b>52-55.</b>  |
| 3.1 Antibiograma                     | 52-53.         |
| 3.2 Concentración Mínima Inhibitoria | 53-55.         |
| <b>4. DISCUSIÓN</b>                  | <b>56-57.</b>  |
| <b>5. CONCLUSIONES</b>               | <b>57.</b>     |
| <b>6. RECOMENDACIONES</b>            | <b>58.</b>     |
| <b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>               | <b>59-61.</b>  |
| <br><b>ANEXOS</b>                    | <br><b>62.</b> |

## GLOSARIO

**ANTIBIOGRAMA:** Determinación in Vitro de la sensibilidad de una bacteria a los antibióticos o a otros agentes antibacterianos.

**BACTERIOSTÁTICO:** Efecto que aunque no produce la muerte a una bacteria, impide su reproducción; la bacteria envejece y muere sin dejar descendencia. Un efecto bacteriostático está producido por sustancias bacteriostáticas. Estas sustancias son secretadas por los organismos como medios defensivos contra las bacterias.

**CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA:** Es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de la incubación repentina. Las concentraciones inhibitoria mínimas son importantes en los diagnósticos de laboratorio para confirmar la resistencia de microorganismos para un agente antimicrobiano.

**EFFECTIVIDAD:** Capacidad de lograr un efecto deseado, esperado o anhelado. En cambio, eficiencia es la capacidad de lograr el efecto en cuestión con el mínimo de recursos posibles viable.

**Enterococcus faecalis:** Bacteria anaerobia facultativa Gram. Positiva que puede ocasionar ciertas patologías clínicas incluyendo La endocarditis, bacteriemia, e infecciones al tracto urinario. Es también una de las especies prevalentes más encontradas en infecciones de conducto radicular persistente, refractaria al tratamiento endodóntico.

**HIDRÓXIDO DE CALCIO:** Medicamento intraconducto, caracterizado por un pH alcalino, con un espectro bacteriostático de gran efecto, utilizado en la terapia Endodóntica.

## INTRODUCCIÓN

Durante varios años la endodoncia ha sido considerada una de las ramas más importantes en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de las enfermedades pulpares o periapicales y para esto debe realizarse un estudio adecuado y a tiempo para descubrir la etiología y de esta manera poder iniciar un procedimiento adecuado que pueda erradicar completamente la causa de las lesiones endodónticas.

El hidróxido de calcio ha sido utilizado ampliamente en esta área, desde su introducción por Herman en 1920, inicialmente fue indicada para la obturación de conductos radiculares y desde entonces se realizan diversos estudios donde analizan el comportamiento de este medicamento dentro del conducto. A pesar de todos los estudios iniciados, el hidróxido de calcio ha sido usado además para recubrimientos pulpares directos e indirectos, apexificación, apexogénesis, tratamiento de reabsorciones, cemento sellador, y en perforaciones, por ser un medicamento de fuertes propiedades como: fácil de manipular, buena difusión y aplicación, debe sumarse que el hidróxido de calcio tiene un pH alcalino importante en la neutralización del efecto bacteriano en el conducto radicular y también se encarga de inhibir la actividad osteoclástica, baja la concentración de iones de hidrógeno y la actividad enzimática de la bacteria también se inhibe. Por eso nos vemos en la necesidad de realizar esta investigación e indagar cuál es el crecimiento de esta bacteria frente a estos medicamentos.



## **1. ASPECTOS TEÓRICO CIENTÍFICOS**

### **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

El hidróxido de calcio entre sus múltiples usos en endodoncia, ha sido utilizado como medicamento intraconducto, por su pH alcalino, ayudando a la eliminación parcial de microorganismos en dientes contaminados permitiendo la eficacia de la terapia endodóntica.

La permanencia de la bacteria en el conducto radicular ocasiona la agudización de la lesión peri apical que es generada por que el *Enterococcus faecalis* fácilmente cambia su comportamiento a medida que evoluciona la lesión, adaptándose a las condiciones ambientales a las que es sometido.

Por esta razón surge la necesidad de indagar sobre la proliferación bacteriana antes y después de la terapia endodóntica con Hidróxido de calcio.

¿Cuál es la efectividad bacteriostática del Hidróxido de Calcio (EUFAR) ® con dos vehículos diferentes y el Hidróxido de Calcio Ultracal XS® (Ultradent) frente al *Enterococcus faecalis*?

### **1.2 JUSTIFICACIÓN:**

Con el paso del tiempo y de la experiencia clínica en endodoncia y su terapia pulpar se ha establecido que la preparación mecánica del conducto es

insuficiente para eliminar el tejido pulpar y la dentina infectada, debido a esto se han creado distintas soluciones de lavado a diferentes concentraciones; solo una pocas han demostrado no ser eficaces. Es por esto que con esta investigación queremos evaluar la cantidad de proliferación bacteriana en la terapia pulpar utilizando 2 tipos de soluciones de Hidróxido de calcio (nacional e importado) acompañados de un vehículo (Lidocaína 2%, Clorhexidina) para poder identificar el tratamiento adecuado de la terapia endodóntica.

### **1.3 IMPACTO:**

Este proyecto posibilita el conocimiento a los profesionales y estudiantes, acerca de los efectos de (EUFAR) ® mezclado con dos vehículos y Ultracal XS®, en el tratamiento de la terapia pulpar; Identificando y obteniendo información útil y descriptiva sobre la cantidad de proliferación bacteriana según la solución y el vehículo utilizado, con el fin de servir como guía para la toma de decisiones y soluciones clínicas en la terapia pulpar; que deben tener la mayor y más larga eficacia antimicrobiana contra las diversas especies bacterianas en el conducto radicular infectado, sin ocasionar irritación del tejido peri apical. Se ha mostrado que las suspensiones del hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  cumplen con estas condiciones. Por ello, el Hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  actualmente es considerado el medicamento intraconducto de elección.

### **1.4 MARCO TEÓRICO:**

Durante varios años se ha constatado que una infección de la pulpa, puede producir colonización microbiana de todo el sistema del conducto radicular,



junto con sus túbulos dentinales. La pulpa es el tejido blando que contiene los nervios, los vasos sanguíneos y el tejido conectivo, en el diente. La pulpa dental se puede ver afectada por diferentes factores: de origen químico, traumático, térmico, eléctrico y bacteriano; razón por la cual debemos identificar los microorganismos más frecuentes en las lesiones del tejido pulpar, que pueden generar además de una afección sintomática y dolorosa la necrosis o muerte de la misma. Existe una gran cantidad de clasificaciones y publicaciones reportadas por investigadores muy razonadas y de gran valor científico, en lo que todos los autores están de acuerdo es que una de las ayudas más relevantes de la enfermedad pulpar son los hallazgos histopatológicos. Por otra parte debe tenerse en cuenta una clasificación clínica para ayudar al profesional a decidir con precisión el mejor plan de tratamiento. La mayoría de los autores clasifican las enfermedades pulpares en procesos inflamatorios o pulpitis, procesos regresivos - degenerativos o necrosis. (1)

Dentro de la clasificación encontramos la periodontitis apical crónica no supurativa también conocida en la nueva clasificación como periodontitis apical crónica, esta es una infección de origen pulpar con inflamación y destrucción del periodonto apical; asintomático, ocasionalmente puede haber dolor espontáneo no sensible a la percusión ni a la palpación, no hay respuesta a las pruebas eléctricas y térmicas, órgano pulpar necrótico e infectado y leve movilidad en algunos casos; a nivel radiográfico se observa zona radio lúcida delimitada bien definida a nivel peri apical y en algunas ocasiones leve ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal; esta patología presenta extensión del proceso infeccioso a la porción peri apical. También puede resultar de un absceso agudo preexistente o de una terapia endodóntica inadecuada. (2)

A nivel histológico y según su patogenia cuando al tejido peri apical llegan gérmenes poco virulentos, en poca cantidad, o productos tóxicos de descomposición pulpar, en un organismo con buena capacidad de defensa, se produce un cuadro crónico; este proceso se caracteriza por una gran concentración de macrófagos, fibroblastos, células plasmáticas y linfocitos que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo. Los macrófagos y fibroblastos constituyen una barrera mecánica de defensa en el foramen apical. Los antígenos de la pulpa condicionan la formación de anticuerpos que a través del torrente circulatorio llegan al tejido periapical, estimulando a los linfocitos y células plasmáticas para producir fundamentalmente IgG, IgA. Además existe una marcada reacción vascular, produciéndose un tejido de granulación (el llamado granuloma peri apical), este tejido de granulación está más o menos delimitado por una reacción fibrosa; También pueden observarse células epiteliales provenientes de los restos epiteliales de Malassez, en diferentes grados de proliferación, por lo general estas lesiones tienen una rica inervación con fibras mielínicas y amielínicas. El crecimiento de este tejido de granulación puede provocar destrucción del cemento y la dentina radicular. La acción compresiva directa del tejido inflamatorio sobre el hueso estimula la acción de los osteoclastos ocasionando pérdida ósea la cual se puede determinar mediante la toma de radiografías. (3)

Un aumento en la virulencia de los microorganismos o disminución en la capacidad de defensa del organismo, condicionan un proceso purulento que intentará buscar una vía de drenaje, bien sea a través del conducto o a través del hueso alveolar, mediante la formación de un trayecto fistuloso. La colección purulenta se abre camino a través del hueso hasta llegar al periostio formándose un absceso, posteriormente tanto el periostio como la mucosa son perforados, y el pus es drenado a través de la fístula. La evolución de esta lesión crónica varía según una serie de circunstancias. En



algunos casos el tejido de granulación puede crecer lentamente y destruir el tejido óseo sin producir sintomatología, pero en ocasiones el proceso crónico puede agudizarse y formar un absceso. (3)

En el conducto radicular, se presenta una microflora de especial comportamiento en la patología oral; los grupos de microorganismos que se establecen en los conductos radiculares, cambian su comportamiento a medida que la lesión evoluciona; así, los anaerobios facultativos son los que terminan predominando en las lesiones de origen dental en estado crónico. También se ha relacionado el tamaño de la lesión con la cantidad de microorganismos presentes: las lesiones extensas presentan un número mayor de especies bacterianas que las lesiones de menor tamaño. Se han comprobado en estudios *in Vitro* e *in vivo* que las bacterias son capaces de colonizar y desarrollarse en el interior de los túbulos dentinarios del conducto radicular y que, a veces, no se consigue su eliminación completa con la instrumentación. (4).

En un proceso infeccioso de muchos años la bacteria puede propagarse hacia el canal radicular, istmos, fibras delta y túbulos dentinales; que la bacteria se aloje en estos sitios es normal debido a la preparación mecánica del conducto lo que hace necesario la utilización de un medicamento intra conducto favoreciendo la reducción o eliminación de la bacteria. En patologías donde encontramos pulpa necrótica y que además de esto se asocia a una lesión peri radicular, muestran una alta incidencia de éxito en la terapia pulpar siempre y cuando la bacteria sea eliminada en su totalidad del conducto radicular. Cuando el medicamento intra conducto permanece más tiempo en este lugar puede penetrarse en lugares no alcanzados por instrumentos o sustancias irritantes. Además actúa como barrera física

previniendo el suministro nutritivo a la bacteria y la aparición de una nueva infección. (5).

Aunque la preparación bio-mecánica de los conductos radiculares es capaz de reducir el número de bacterias, un medicamento con acción antibacteriana intracanal debe maximizar la desinfección del sistema de conductos radiculares en los casos infectados. (6)

La necesidad de aumentar la medicación, sobre todo en aquellos casos en que una infección es resistente a los tratamientos regulares, y la terapia no puede ser completada con éxito debido a la presencia de dolor o exudado hace que exista una gran variedad de medicamentos intraconducto que se han utilizado, como el hidróxido de calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) pastas y geles de clorhexidina. (7).

Por lo tanto, los principios del tratamiento endodóntico de un diente deben minimizar el número de microorganismos alojados en los túbulos dentinales, ya que estos pueden constituir un depósito en el canal de la raíz, infección de los tejidos circundantes y la reinfección puede ocurrir. Por lo tanto, en la endodoncia los medicamentos deben ser capaces de penetrar en los túbulos dentinales y matar las bacterias dentro de ellos. Cuando las bacterias invaden los túbulos dentinarios, no todos los túbulos se han invadido a la misma extensión. Un estudio informó que el *Enterococcus faecalis* no invade los túbulos dentinales hasta después de dos semanas de incubación cuando el cemento está intacto. A las tres semanas de incubación, los microorganismos habían penetrado más de la mitad de la dentina en el tercio cervical de la raíz, hasta la mitad la dentina en el tercio medio, y sólo un tercio de la distancia a través de la dentina en el tercio apical de la raíz. El *Enterococcus*



*faecalis* ha demostrado que penetra entre 50-300µm en la dentina de humanos, la penetración de la dentina por otras especies también se ha reportado. (8)

Los medicamentos que se utilizan como una ayuda para mejorar el pronóstico del tratamiento endodóntico, Eliminan o destruyen cualquier bacteria que no han sido destruidos por los procesos de la preparación biomecánica (es decir, la instrumentación); Reducen la inflamación peri radicular y por lo tanto reducen el dolor; Ayudan a la eliminación de el exudado apical si está presente; Previenen o detienen la reabsorción radicular inflamatoria, si está presente, y previenen la reinfección del conducto radicular por medio de un producto químico y una barrera física. (8)

La evolución de las bacterias a través del tiempo ha generado un sin número de especies diversas. Estas especies, a su vez, han producido mecanismos de resistencia, con el fin de contrarrestar la acción de los antibióticos. Como resultado de lo anterior, aún bacterias que no han sido expuestas a los antibióticos disponibles comercialmente, pueden poseer genes de resistencia a estas drogas. (9).

La mayoría de especies que pertenecen al género del *Enterococcus* se pueden encontrar en diversos ambientes, como en el tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos, en aves, reptiles, insectos, plantas, agua y suelo. También son capaces de colonizar el tracto genitourinario y la cavidad oral. De estas especies el *Enterococcus faecalis* es el más comúnmente aislado o detectado en las infecciones orales, incluida la periodontitis, raíces infectadas y abscesos peri apicales. (10).

Las bacterias anaerobias, especialmente las especies Gram. Negativas productoras de pigmento negro, se han vinculado a los signos y síntomas de la patología periapical. (Gomes y Col. 1994 - 1996). Las bacterias facultativas, tales como *Enterococcus faecalis*, también se han aislado de los conductos radiculares infectados y puede estar relacionado con el fracaso del tratamiento del conducto radicular. (11)

El *Enterococcus faecalis* es una bacteria anaerobia facultativa Gram. Positiva que puede ocasionar ciertas patologías clínicas incluyendo la endocarditis, bacteriemia, e infecciones al tracto urinario. Esta no forma esporas, ni fermentación, son ovoides 0,5 a 1 micra de diámetro. Se presentan por separado, en parejas o en cadenas cortas, y con frecuencia son alargadas en la dirección de la cadena. La mayoría de las cepas son no hemolíticas y no móviles, colonias circulares, lisas. (10).

Es también una de las especies prevalentes más encontradas en infecciones de conducto radicular persistente, refractaria al tratamiento endodóntico. La adhesión y colonización del huésped por los microorganismos son los primeros pasos en el establecimiento de la mayoría de enfermedades infecciosas, después de la cual ocurren los cambios patológicos. En la infección endodóntica, se ha mostrado que la colonización del túbulo dentinal por *Enterococcus faecalis* ocurre a través de la adhesión de la bacteria al colágeno, el principal componente orgánico de la dentina; Sin embargo, cuando se adhiere a la dentina, puede ser difícilmente eliminado, esto puede atribuirse en parte a interacciones entre la dentina y el desinfectante debido a que la dentina tiene un efecto amortiguador. La interacción entre la dentina y *Enterococcus faecalis* puede también hacer que el microorganismo cree resistencia ya que el *Enterococcus faecalis* que se adhiere a las superficies



dentinales es más resistente contra el hidróxido de calcio comparado con sus contrapartes libres - flotantes. Se ha encontrado que el colágeno asociado al *Enterococcus faecalis* puede ser más resistente contra la clorhexidina, pero más susceptible al hidróxido de calcio comparado con la bacteria no expuesta al colágeno. (12).

El análisis de la prevalencia de *Enterococcus faecalis* en los casos de infecciones primarias reveló que esta especie se detectó con mayor frecuencia en los casos asintomáticos que en los sintomáticos. Estos resultados coinciden con otros informes anteriores en donde el *Enterococcus faecalis* fue encontrado en el 11,5% de los dientes asintomáticos y en el 3,7% de los casos sintomáticos. (10)

Sin embargo, la importante participación del *Enterococcus faecalis* en enfermedades asintomáticas peri apicales apoya la hipótesis de que los *Enterococcus* son microorganismos en general no muy virulento, y su emergencia como patógenos puede ser mucho más relacionada con la resistencia a varios agentes antimicrobianos que a la alta virulencia. (10).

El *Enterococcus faecalis* se asoció significativamente con los fracasos del tratamiento considerando que esta especie se detectó en el 18% de los casos de infecciones primarias de endodoncia, su prevalencia en los dientes obturados fue mucho mayor, en el 67% de los casos. Este hallazgo sugiere que esta especie puede ser inhibida por otros miembros de un consorcio mixto bacteriano comúnmente presentes en las infecciones primarias, y que las condiciones del medio ambiente de los conductos radiculares obturados pueden impedir su supervivencia. Para que un determinado microorganismo pueda sobrevivir a un tratamiento de conducto obturado, debe resistir procedimientos de desinfección y soportar períodos de hambre. Los estudios



han revelado que el *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad de penetrar en los túbulos dentinarios, a veces en un grado de profundidad alto, esta propiedad puede permitir que esta especie pueda escapar de la acción de los instrumentos de endodoncia y soluciones de irrigación utilizadas durante la preparación biomecánica. (10).

La temperatura óptima de crecimiento *in Vitro* de este microorganismo es de 35°C, no obstante, se ha observado crecimiento entre 10°C y 45°C; Casi todas las cepas son homo fermentativas, siendo el ácido láctico el producto final principal de la fermentación de la glucosa, no producen gas y no contienen enzimas citocrómicas. El *Enterococcus faecalis* posee una pared celular con antígenos del grupo D, el cual es un ácido lipoteico que se encuentra asociado con la membrana citoplasmática de la bacteria y que contiene residuos de glicerol, Además, posee gran cantidad de mureina y ácido teicoico. Una característica notable del *Enterococcus faecalis* la constituye su capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para muchas bacterias, en particular zonas con altas concentraciones de sales (6,5% de Cloruro de Sodio), temperaturas extremas (15-60°C) y pueda resistir a la acción de colorantes como Azul de Metileno al 0,1%. Esta capacidad de resistencia por parte del *Enterococcus faecalis* en microambiente tóxicos está relacionada con su capacidad de supervivencia en los conductos radiculares de dientes que han sido sometidos a tratamiento endodóntico. (13).

Algunas investigaciones han reportado la presencia de biopelículas (biofilms) de *Enterococcus faecalis* en el sistema de conductos de dientes mono radiculares extraídos y que habían sido obturados con cemento a base de Hidróxido de Calcio. La formación de la biopelícula constituye una evidencia contundente de que el *Enterococcus faecalis* puede colonizar los conductos

radiculares medicados. Cuando esta especie crece en las biopelículas, puede ser hasta mil veces más resistente a la acción de los antimicrobianos que cuando se halla como bacteria planctónica (suspendida en un medio líquido y no adherida a ninguna superficie). Si la formación de biopelículas que contienen *Enterococcus faecalis* ocurre *in vivo*, ello pudiera considerarse como un mecanismo que permite a este microorganismo resistir al tratamiento antimicrobiano. (13).

En la infección endodóntica el *Enterococcus faecalis*, primero se adhiere a la superficie de los tejidos por una asociación física; en un segundo paso hay una unión permanente a adhesinas bacterianas específicas con los receptores complementarios sobre las superficies del hospedador. Una vez que la célula bacteriana está adherida, es capaz de utilizar los nutrientes disponibles creando una estructura de biopelícula para hacer frente a los mecanismos de defensa y de resistencia a los tratamientos antibacterianos. (13)

Por estas razones, los datos experimentales sugieren que las células de *Enterococcus faecalis* se puede recuperar después de un tratamiento de instrumentación efectivo. Una explicación más reciente de la alta incidencia de *Enterococcus* en los conductos obturados es que su entrada durante o después del tratamiento, da origen a la infección. La infección intracanal con *Enterococcus faecalis* puede deberse a la contaminación salival durante el tratamiento o la obturación del conducto radicular insuficiente. (14).

Algunas hipótesis recientes indican que *Enterococcus faecalis* se introduce en la cavidad oral en los alimentos o por los instrumentos durante terapia



endodóntica. Se puede transmitir por medio de saliva en los conductos radiculares durante tratamientos de conductos o por lesiones en los dientes. Su adhesión a una superficie dental es controlada por un número de variables incluidas las superficies de las estructuras y disponibilidad de nutrientes. La adhesión primaria de las bacterias a una superficie es mediada por interacciones no específicas, tales como hidrofóbicas o fuerzas Van der Waals, sin embargo las adherencias moleculares con las superficies dentales son necesarias. (14).

Se ha dicho que el *Enterococcus faecalis* es resistente al hidróxido de calcio, un medicamento de uso común dentro del conducto radicular, y esa capacidad de resistir altos valores de pH parece estar relacionado con un funcionamiento de la bomba de protones, que impulsa protones en la célula para acidificar el citoplasma. Este puede colonizar los conductos radiculares en infecciones simples y crear una relativa independencia sin obtener los nutrientes de otras bacterias, es sin duda esencial para su establecimiento en los conductos obturados. Por último, las claves del entorno también pueden regular la expresión génica del *Enterococcus faecalis*, puede permitir que el microorganismo pueda adaptarse a diversas condiciones ambientales. Esto incluye la capacidad de sobrevivir en entornos con escasos nutrientes y prosperar cuando la fuente de nutrientes se restablezca. Todas estas propiedades ayudan a explicar la prevalencia significativamente alta del *Enterococcus faecalis* en la mayoría de los casos. Resultados de varias investigaciones indican que el *Enterococcus faecalis* es significativamente más asociado con casos asintomáticos que con los sintomáticos. Además es mucho más probable que se encuentre en los casos de éxito con la terapia endodóntica primaria que en las infecciones endodónticas. La cuestión de si el *Enterococcus faecalis* es un importante patógeno involucrado en la



etiología de los fracasos endodónticos o si es simplemente un colonizador que se aprovecha de las condiciones ambientales dentro de los conductos radiculares obturados aún no se ha apreciado completamente. (10).

Este microorganismo se ha encontrado con frecuencia dentro de los canales de la raíz que exhibían indicios de periodontitis apical crónica, donde es escasa la llegada de los medicamentos, de forma que pueden soportar condiciones ambientales ásperas y adaptarse a multitud de adversidades. Su patogenicidad se extiende en individuos comprometidos a las condiciones menos severas, tales como infección de los canales de la raíz con periodontitis apical crónica y los factores de virulencia que puede relacionarse con la colonización del anfitrión, competición con otras bacterias, resistencia contra mecanismos de defensa del anfitrión, y de la producción de cambios patológicos directamente con la producción de toxinas o indirectamente a través de la inducción de la inflamación a través de las sustancias de agregación, adhesinas superficiales, feromonas, ácido lipoteico, producción de superóxido extracelular, y varias enzimas líticas (Gelatinasa, Hialuronidasa, y toxina citolítica). Cada uno de ellos se puede asociar a varias etapas de una infección endodóntica así como con la inflamación periapical. Mientras que algunos productos de la bacteria se pueden ligar directamente al daño de los tejidos blandos periradiculares, una gran parte de los daños de los tejidos blandos es mediada probablemente por la respuesta del anfitrión a la bacteria y a sus productos. (3).

- *Sustancias de Agregación (AS)*: sirve como factor protector a favor de la bacteria contra los mecanismos de defensa del huésped, ya que los antígenos, moléculas producidas por las bacterias, virus, parásitos, y levaduras, pueden inducir la inflamación con el estímulo de los linfocitos T,

seguido por un masivo lanzamiento de citoquinas inflamatorias, dando como resultado el daño de los tejidos blandos. Estas sustancias son capaces de mediar el paso de proteínas de la matriz a partir del espacio extracelular, incluyendo el colágeno tipo I siendo de importancia particular, puesto que éste es el componente orgánico principal del esmalte dental. Se ha demostrado que la capacidad de una bacteria de adherir colágeno puede desempeñar un papel importante en la patogenia de la endocarditis, y de la misma forma, el papel de las sustancias de agregación en dicha enfermedad puede también contribuir en las infecciones endodónticas y peri apicales. (11).

- *Adhesinas Superficiales:* El *Enterococos faecalis* codifica una proteína de elevado peso molecular, se trata de una adhesina superficial utilizada para el transporte de manganeso requerido para la supervivencia, el crecimiento y la homeostasis citoplasmática de la bacteria, cuya expresión es inducida cuando la disponibilidad de éste compuesto es baja en lugares como el esmalte dental. Es importante destacar, que dicha proteína se ha detectado en abundancia entre los aislantes de bacteriemia y endocarditis siendo de formar una película biológica en las paredes dentinales y permite la resistencia de las mismas a la medicación con hidróxido de calcio en los canales de las raíces infectadas. (11).

- *Las Feromonas:* funcionan como señaladores de los péptidos en el *Enterococos faecalis* y actúan como quimiotáxicos para los neutrófilos del ser humano e inducen la producción de superóxido y de enzima lisosomal. En los dientes con una zona de lesión periapical expuesta más grande, aumentan los niveles de la enzima lisosomal. Además, las enzimas lisosomales del neutrófilo pueden activar el sistema de complemento, que puede contribuir a la reabsorción de la ósea en los tejidos peri apicales por la destrucción del hueso o por la inhibición de la nueva formación del mismo. (11).



- *Acido Lipoteico (LTA)*: están presentes en la superficie de muchas bacterias Gram. Positivas y también en el medio liquido de los *estreptococos* y de los *lactobacilos*. La mayor parte de los *estreptococos* orales contienen LTA y exhiben mucha afinidad hacia la hidroxapatita, consecuencia que podría realzar la colonización de Gram. Positivos en las superficies dentales. (11).

- *Gelatinaza*: puede ser producida por una amplia variedad de células mamíferas, incluyendo las células inflamatorias, células epiteliales, los fibroblastos, los osteoclastos. No obstante, la gelatinaza del anfitrión desempeña un papel en procesos fisiológicos normales, tales como regulación de la formación y remodelación de los tejidos blandos. Sin embargo, la actividad no regulada tiene consecuencias patológicas como la invasión de las células de cáncer, de la artritis, y de la periodontitis. Por lo que, La inhibición de esta disminuye el índice de reabsorción del hueso en el tejido blando. (11).

Recientemente fue divulgado que la gelatinaza del anfitrión era más alta en pulpas inflamadas y en lesiones peri apicales que dentro de tejidos blandos sanos y también estaba demostrado que tenia un efecto significativo en la degradación en la matriz orgánica del esmalte dental, ya que ciertos péptidos generados como consecuencia de la fragmentación del colágeno, atraen monocitos, macrófagos, y neutrófilos al sitio de la interrupción. Además, los péptidos del colágeno estimulaban el aumento del oxígeno reactivo, del peróxido de hidrógeno y del superóxido, y también las enzimas y gelatinaza, por parte de los macrófagos. Por analogía, la hidrólisis del colágeno cerca la gelatinaza del *E. Faecalis* puede por lo tanto desempeñar un papel



importante en la patogenia de la inflamación periapical por su potencial citotóxico y sus efectos inhibitorios sobre los fagocitos. (11).

- *Hialuronidasa*: actúa en el ácido hialurónico y es principalmente una enzima degradante que se asocia a daño de los tejidos blandos como consecuencia de su actividad. Además provee los alimentos para las bacterias, desde los productos de la degradación como son los disacáridos, que se pueden transportar y metabolizar intracelularmente por las bacterias. La presencia de microorganismos, incluyendo el *Enterococos faecalis*, en lesiones periapicales, se puede también relacionar con la actividad de una enzima bacteriana que degrada la hialuronidasa y puede actuar para facilitar la migración de las bacterias del conducto radicular en la lesión periapical. Sin embargo, debido a la carencia de estudios respecto al papel de la hialuronidasa, la contribución de este factor en la periodontitis apical causado por los *enterococos* sigue siendo hipotética. (11).

- *Toxina Citolisina*: se considera un factor fundamental de virulencia pues provoca una variabilidad de la flora bacteriana asociada a la enfermedad periodontal. Esto se debe al cambio de las condiciones de oxígeno debido a cantidades crecientes de citolisina, produciendo así un ambiente anaerobio en los canales de la raíz, creando así, un entorno satisfactorio para la supervivencia de esta bacteria. (11).

La sustancia de agregación (AS-48): es un antibiótico codificado de un plásmido originario de un péptido de *Enterococos faecalis* que ejerce una actividad lítica sobre una amplia gama de bacterias Gram. Positivas y Gram. Negativas. El modo de la acción de la sustancia de agregación en las células blanco es el derrumbamiento del potencial de la membrana citoplasmática. Además de las bacteriocinas nombradas anteriormente, existen otras que se

han aislado del *Enterococos faecalis* y tienen acción inhibitoria principalmente en bacterias Gram. Positivas. (11).

A pesar de ello, microorganismos específicos tales como *Enterococos faecalis* parecen ser resistentes contra medicamentos intraconductos. Para poder realizar cualquier tipo de investigación en la que se utilicen soluciones de lavado para el tratamiento pulpar, deben tenerse en cuenta las características que este pueda tener sobre el crecimiento bacteriano y la manera como se encarga de generar algún tipo de inhibición en la aparición de determinados microorganismos como el *Enterococos faecalis*. (15).

El hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  es una de las sustancias más ampliamente utilizadas en endodoncia desde su introducción por Hermann en 1920. Y desde entonces ha sido utilizado como medicación intraconducto, para de esta forma eliminar con sus características físicas y químicas un gran porcentaje de microorganismos que hayan generado la patología. Además de poseer distintas funciones como por ejemplo la protección directa e indirecta, recubrimientos pulpaes, solución irrigadora, tratamiento de reabsorciones, cemento sellador, reparación de perforaciones y apexificación. (16).

Se ha mostrado que la instrumentación e irrigación bacteriana brindará del 50% al 70% de conductos infectados libres de microorganismos. Estos y sus productos tóxicos son responsables del desarrollo y persistencia de la infección a nivel del órgano pulpar. Es por ello crucial el tratamiento del conducto radicular infectado para evitar la recidiva de la enfermedad, utilizando agentes bacteriostáticos como irrigadores intraconducto. (16).



El hidróxido de calcio  $[\text{Ca} (\text{OH})_2]$ , ha sido ampliamente utilizado en endodoncia como un medicamento intracanal. La acción antimicrobiana de hidróxido de calcio también se relaciona con su capacidad para reaccionar con el dióxido de carbono en el conducto radicular. (17).

En la mayoría de las investigaciones sobre hidróxido de calcio y su actividad antimicrobiana se ha utilizado el método de difusión en agar, que sólo se indica el medicamento potencial para eliminar las bacterias en el sistema de conductos radiculares, pero no cuantifica su oportunidad de acción. (17).

El hidróxido de calcio puede ser presentado en dos maneras comerciales: pasta y polvo, cada una por separado posee las características generales como su baja solubilidad en agua, su pH alcalino, aproximadamente de 12.5, esta gran propiedad le permite convertirse en un excelente bactericida, incluso las esporas son eliminadas al ponerse en contacto con este elemento. Comúnmente cuando el medicamento es utilizado en polvo se prepara con clorhexidina, suero fisiológico, anestesia ó agua destilada, aunque puede utilizarse cualquier presentación o marca comercial, esto depende básicamente del tipo de tratamiento, el microorganismo que se quiera combatir, y la evolución de la patología. A pesar de que el mecanismo exacto de acción del  $\text{Ca} (\text{OH})_2$  aún es desconocido, su actividad antimicrobiana es generalmente considerada estar relacionada con la liberaciones de iones de hidroxilo en un entorno acuoso. La mayoría de patógenos endodónticos son incapaces de sobrevivir en este entorno alcalino. Los mecanismos que el  $\text{Ca} (\text{OH})_2$  usa para eliminar la bacteria pueden incluir: *Daño a la membrana citoplasmática*: (Los iones hidroxilo inducen peroxidación de lípidos, provocando la destrucción de los fosfolípidos componentes de la membrana celular. Remueven los átomos de hidrógeno de los ácidos grasos insaturados, generando radicales libres lipídicos, los que



reaccionan con el oxígeno formando radicales peróxidos, que remueven otro átomo de hidrógeno de otro ácido graso, creando una reacción en cadena que conlleva a un daño extenso en la membrana.); *Desnaturalización de proteína*:(La alcalinización producida por el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  induce el rompimiento de los enlaces iónicos de la estructura terciaria de las proteínas. Esto tiene como consecuencia que muchas enzimas pierdan su actividad biológica, alterando el metabolismo celular. Los iones hidroxilo también pueden ocasionar daño estructural a las proteínas), y *daño en el DNA bacteriano*:(Los iones hidroxilo reaccionan con el DNA celular induciendo la separación de las cadenas, inhibiendo la replicación celular y la pérdida de genes)(Stephen, J. y col 2005); Además sirve como barrera física que retiene los nutrientes para el crecimiento bacteriano y limita el espacio para la multiplicación bacteriana. La capacidad del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  para disolver tejidos ha sido atribuida a su efecto proteolítico. (18).

#### Propiedades:

1. Estimula la calcificación, de una manera muy clara, activa los procesos reparativos por activación osteoblástica; al aumentar el pH en los tejidos dentales (*Tronsland. 1981*); cree que dicho cambio de pH es beneficioso porque además inhibe la actividad osteoclástica;
2. Antibacteriana, Kodukula en 1988, relata que las condiciones del elevado pH baja la concentración de iones de  $\text{H}^+$ ; y la actividad enzimática de la bacteria es inhibida. Puede esterilizar hasta un 88% de los conductos radiculares (*Cuek.1976*);
3. Disminuye el Edema;
4. Destruye el Exudado;
5. Genera una barrera mecánica de cicatrización apical;
6. Sella el sistema de conductos (*Mérida. 1985*);
7. Equilibra la toxicidad al ser mezclado con solución fisiológica o anestesia.
8. Disminución de la Sensibilidad (por su efecto sobre la fibra nerviosa). (19).

9. Biocompatibilidad (por su baja solubilidad en el agua y la difusión limitada);  
10. La capacidad para fomentar la reparación del tejido periapical al  
alrededor del diente con el canal infectado; 11. La inhibición de la reabsorción  
radicular y la estimulación de curación periapical después de un traumatismo.  
(19)

Estas propiedades se deben a su actividad antimicrobiana, su capacidad para inactivar LPS, su capacidad para promover la formación de tejidos duros, y su acción de larga duración. La limitada eficacia de la utilización a corto plazo de hidróxido de calcio en la desinfección de los túbulos dentinarios debido a varios factores:

- La inhibición de la proteína buffering dental, especialmente en cuanto a la capacidad de iones hidroxilo para llegar al tercio apical y tienen un efecto antibacteriano.
- La baja solubilidad y difusibilidad de hidróxido de calcio puede hacer que sea difícil obtener un rápido aumento en el pH para alcanzar el nivel necesario para eliminar o matar las bacterias dentro de los túbulos dentinarios y anatómicas variaciones.
- El potencial alcalino es variable en diferentes formulaciones,
- Biopelículas densas de bacterias situadas en los túbulos dentinarios pueden proteger a los más profundos dentro de los túbulos,
- Tejido necrótico en ramificaciones, istmos y las irregularidades pueden proteger a las bacterias de la acción de hidróxido de calcio,
- La capacidad de *E. faecalis* a colonizar en túbulos dentinarios, evitando así los iones hidroxilo.
- El Hidróxido de calcio estimula la adhesión de las bacterias al colágeno (el principal componente orgánico de la dentina) que aumenta el grado de invasión del túbulo y por ende resistencia a más desinfección.
- Otras desventajas de hidróxido de calcio son las dificultades asociadas con



sacarlo de la raíz, de las paredes del canal y su efecto en la disminución de los tiempos de fraguado. (19)

Descripción:

*Características Físicas:* (Polvo blanco de alta finura - Tamaño de partícula 99%); *Características Químicas:* (Hidróxido de calcio 80 – 95% Óxido de magnesio 2%, Silicatos al 2%, óxidos metálicos 0.5%, 3.0%.

Los medicamentos intraradiculares se utilizan como complemento de una meticulosa limpieza y modelado del sistema conductos radiculares. Su única función es conservar la asepsia de éste entre las diferentes citas de tratamiento. Estudios realizados por Bystrom (1986), reportan que el hidróxido de calcio es altamente efectivo contra los microorganismos anaerobios. (20).

La acción bactericida del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ha sido relacionada con la liberación de iones hidroxilo, los cuales son radicales altamente oxidantes, altamente reactivos y letales para las bacterias. También se ha postulado que el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  es capaz de alterar el pH del medio donde es colocado e incluso hasta en sitios distantes, lo cual aumenta su efecto bactericida. Los efectos del hidróxido de calcio dependen también de la preparación química y de la disponibilidad del ion hidroxilo en solución. Es un polvo blanco que se obtiene por la calcinación del carbonato cálcico. (21).

El uso del hidróxido de calcio ha sido controversial, pues no siempre ha logrado demostrar su eficacia. Ha sido demostrada la ineficacia del hidróxido de calcio en la eliminación de bacterias dentro de los túbulos dentinales, pues



para que la sustancia pueda ser efectiva debe difundirse dentro de los túbulos dentinales. Probablemente los resultados encontrados tengan una explicación similar, pues la difusión del hidróxido de calcio en el medio de cultivo probablemente haya sido muy limitada debido a que es muy poco soluble y tiene una alta tensión superficial. Esto nos permite considerar que aún cuando la difusión del hidróxido de calcio haya sido un poco mayor en este caso, tampoco fue suficiente para inhibir el crecimiento bacteriano. (21).

La utilización del hidróxido de calcio como material intraconducto genera una difusión de iones que se produce a través de los túbulos dentinarios, esto podría explicar el éxito de la terapia endodóntica en conductos infectados. Pero debe tenerse en cuenta la importancia de realizar una buena técnica biomecánica y una excelente irrigación a manera de desinfectante introduciendo el hidróxido hasta la parte más apical, además de realizar un excelente sellado tanto radicular como coronal para evitar la exacerbación de la lesión. (22).

Son varias las características y protocolos que deben seguirse para garantizar el éxito de la terapia con hidróxido de calcio, como por ejemplo verificar la total condensación dentro de los conductos radiculares de este material; el conducto debe encontrarse totalmente libre de agua; se sabe que la condición óptima para la reabsorción de tejido duro es un pH ácido, por eso se debe en lo posible tratar de neutralizar el pH oral y en el conducto radicular ya que este genera una desmineralización de los tejidos del diente. La razón para el tratamiento de la reabsorción inflamatoria con hidróxido de calcio es que los productos ácidos, por ejemplo el ácido láctico, de los osteoclastos se neutraliza, evitando así la disolución de los componentes minerales. Por otra parte, el aumento del pH sería desfavorable para la actividad osteoclástica de la hidrolasa ácida; el pH óptimo para estas

enzimas varía de 5 a 5,5, y su actividad puede ser inhibida. Un pH alcalino también podría activar las fosfatasas alcalinas, las cuales, se han sugerido, desempeñan un papel importante en la formación de tejido duro. Es concebible, por tanto, que una continuación del proceso de resorción sería imposible y podría tener lugar la reparación. La presencia de iones de calcio es necesaria para la actividad del sistema del complemento en la reacción inmunológica. (22).

Varios estudios in Vitro han comprobado la desinfección de los túbulos dentinales por medicamentos, han recomendado al hidróxido de calcio como una sustancia poderosa, alcalina debido a sus efectos biológicos. Relacionada con su pH de 12.5 la cual tiene una acción sobre las membranas de la célula de la bacteria y la estructura proteica. Este debe difundirse por los túbulos dentinales y alcanzar niveles suficientes para ser mortal; la hidroxi apatita de la dentina tiene una propiedad de protección que debe ser vencida por iones de hydroxyl en el espacio del conducto radicular, este tiene una pronunciada actividad antimicrobiana contra la mayor parte de las especies bacterianas encontradas en infecciones endodónticas. Sin embargo no es eficaz contra la flora bacteriana del canal radicular. (10).

Anteriores estudios han mostrado que  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , eliminó efectivamente la bacteria en los conductos radiculares y encontraron que una aplicación de 7 días eliminó la bacteria de los conductos radiculares que sobrevivió a la instrumentación. Debido a su baja solubilidad, una cantidad relativamente grande de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  puede ser colocada dentro de los conductos radiculares con poco riesgo de irritación periapical. La lenta disociación de iones de hidroxilo con el paso del tiempo produce una larga duración del efecto antimicrobiano de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en el conducto radicular en contraste con otras soluciones antisépticas. Los túbulos de la dentina pueden actuar como un



reservorio importante para la bacteria que puede producir una reinfección del conducto radicular y finalmente el fracaso del tratamiento endodóntico. En 1990, los mismos autores reportaron que podría tomarle más de 1 semana a  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  desinfectar los túbulos de dentina infectados de bacteria facultativa y que *Enterococcus faecalis* podría sobrevivir por lo menos 10 días en los túbulos de dentina luego de retiro del soporte de nutriente. Estudios adicionales realizados por Safavi - Siqueira y Uzeda también indicaron que preparaciones de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  colocadas en conductos radiculares por un período extendido de tiempo, son incapaces de eliminar *Enterococcus faecalis* (18).

Los medios de transporte (vehículos) se pueden clasificar en acuoso, viscoso y aceitoso. Las propiedades clínicas del hidróxido de calcio dependen del cambio de vehículo utilizado. (Sorlano, C. y col. 2005). Entre los vehículos a utilizar están:

1. **Solución Anestésica:** fue utilizada como vehículo por Stamos y col, en 1985. Boozer (1985) afirma que las soluciones anestésicas con un pH más cercano a la sangre (7.4) son más efectivas y activas. Al mezclar el polvo de Hidróxido de Calcio con unas gotas de solución anestésica se obtiene una pasta que no endurece y puede ser eliminada con facilidad con los instrumentos endodónticos (limas, escariadores, ultrasonido) o a través de la irrigación. Posee una densidad radiológica igual a la dentina. Este vehículo es muy ventajoso ya que entre ambos ingredientes no ocurre ninguna reacción química, por lo tanto no se altera la fórmula química del hidróxido de calcio y mantienen su alcalinidad (Cohen, 1994). Aunque algunos autores afirman, que esta pasta es poco efectiva sobre los microorganismos aeróbicos facultativos como los *Enterococos faecalis* y las pseudomonas, ya que el hidróxido de calcio por sí solo no tiene efecto sobre estos. (23).



**2. Clorhexidina:** El dos por ciento gluconato de clorhexidina (CHX) se ha utilizado como un medicamento de irrigación intra conducto en endodoncia. CHX es un agente que actúa mediante la adsorción en la pared celular de los microorganismos y la salida de componentes intracelulares. La clorhexidina tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana, dirigida tanto a bacterias Gram. Positivas y Gram. Negativas microbios y biocompatibles. (24).

El Gluconato de clorhexidina es un mecanismo catiónicos que parece actuar mediante la adsorción en la pared celular del microorganismo y que produce filtración de componentes intracelulares. (24).

A bajas concentraciones de clorhexidina, pequeñas sustancias de peso molecular se saldrá, resultando en un efecto bacteriostático. A concentraciones mayores, la clorhexidina tiene un efecto bactericida debido a la precipitación y / o coagulación del citoplasma, probablemente causado por la proteína reticulación (24).

La Clorhexidina en forma de gel tiene otras propiedades importantes, como la baja toxicidad para los tejidos periapicales (Greenstein et al. 1986), la viscosidad que mantiene el agente activo en contacto con las paredes del conducto radicular y los túbulos dentinarios, y solubilidad en agua (25).

La combinación de clorhexidina en gel + Ca (OH) 2 inhibe el 100% el crecimiento de *E. faecalis* después de 1 y 2 días de contacto. Sin embargo, su actividad antimicrobiana comienza a disminuir después de días 7 y 30 días por la acción antibacteriana que no es suficiente para eliminar las células bacterianas. (25)

La clorhexidina tiene una gama bastante amplia de la actividad frente a los organismos aeróbicos y anaeróbicos, así como especies de *Candida*. Es más efectivo en alcalinas que en pH ácido, y su acción es inhibida por la presencia de jabones y orgánicos. Ha mostrado una eficacia basado en la interacción entre la carga positiva de la molécula de carga negativa y grupos de fosfato en la pared celular bacteriana. Esto aumenta la permeabilidad de la pared celular que permite que la molécula de clorhexidina pueda penetrar en las bacterias intracelulares con efectos tóxicos. (25)

La clorhexidina en formulaciones en gel tiene una baja toxicidad a la los tejidos periapicales. La viscosidad del gel mantiene el agente activo en contacto con las paredes del conducto radicular y túbulos dentinarios Según Barthel, cuando utilizan para medicar a los conductos radiculares, el gel de CHX no interfiere con las propiedades del sellado de la obturación de los materiales. Sin embargo, a diferencia de hipoclorito de sodio, CHX no se disuelve el tejido orgánico o inactiva las bacterias, por tanto su uso durante la instrumentación mecánica y limpieza de canales es cuestionable. La CHX tiene una característica única, ya que la dentina con ella adquiere antimicrobianos importantes. Las moléculas con carga positiva de CHX puede ser adsorbido por la dentina y prevenir la colonización microbiana en el superficie de la dentina durante algún tiempo más allá de los reales periodos del medicamento, esto puede inhibir la re-infección del canal posterior al tratamiento durante ese periodo de tiempo. (26)

Cuando la CHX se utiliza como una solución de irrigación, tiene un tiempo efectivo de exposición relativamente corto en el canal de la raíz y ello no significa que el medicamento pueda aplicar su acción antibacteriana completa. El limitado efecto antibacteriano de riego de la CHX es el resultado



de la falta de tiempo de aplicación. La dentina debe llegar al punto de saturación antes de que haya persistencia de la actividad antibacteriana. Durante la primera hora de la exposición, la dentina está absorbiendo el medicamento y por lo tanto, todavía no está activo. (27)

El vehículo del medicamento juega un papel muy importante en el proceso desinfección general ya que determina la velocidad de disociación iónica que causa la pasta que se solubiliza y se reabsorbe a tasas diferentes por los tejidos periapicales y desde el interior del conducto radicular. Cuanto más baja

la viscosidad, mayor será la disociación iónica. El alto peso molecular de los vehículos de uso común minimiza la dispersión de hidróxido de calcio en los tejidos y mantiene la pasta en la zona deseada para períodos más largos de tiempo. (28)

La acción bactericida del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ha sido relacionada con la liberación de iones hidroxilo, los cuales son radicales altamente oxidantes, con una gran reactividad, lo que dificulta que puedan difundirse a sitios distantes. Su acción antimicrobiana, disolución del tejido, inhibición de resorción radicular e inducción de formación del tejido duro son una de las cuantas propiedades biológicas atribuidas al hidróxido de calcio. Debido a estas propiedades biológicas, se ha recomendado el hidróxido de calcio para muchas situaciones clínicas en el tratamiento endodóntico. (24).

Las bacterias dentro del conducto radicular, cumplen una función primordial que es producir enzimas y endotoxinas las cuales son responsables de



diversas acciones que potencializan la infección, así tenemos que su presencia: promueve la quimiotaxis de los neutrófilos, polimorfo nucleares y fagocitos; Garantiza la migración de las enzimas lisosómicas; Participa en la respuesta inmunológica del sistema de complemento (C3 y C5); Induce a la producción de anticuerpos e Interfiere en la sensibilidad antibiótica. Dando esto, como resultado la permanencia de una lesión periapical dolorosa. (29).

En el mayor número de casos se encuentra la presencia de microorganismos de elevada virulencia, resistentes a la terapia antimicrobiana, en conjunto con situaciones de pacientes de baja resistencia orgánica, influenciando esto negativamente al pronóstico del tratamiento endodóntico. La potencialización de estas infecciones ocurre comúnmente en virtud del predominio de bacterias anaeróbicas como (*Prevotella*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas* y *Fusobacterium*); entre las numerosas especies de microorganismos que constituyen la variada flora bacteriana. (30).

## **1.5. OBJETIVOS:**

### **1.5.1 GENERAL**

Observar la efectividad bacteriostática del hidróxido de calcio (EUFAR) ® con dos vehículos diferentes y el Ultracal XS® (Ultradent) frente al *Enterococcus faecalis*.

### **1.5.2 ESPECÍFICOS:**

- Establecer cuál es el vehículo ideal para preparar el Hidróxido de calcio (EUFAR) ®.

- Determinar la efectividad bacteriostática del Hidróxido de calcio (EUFAR)®.
- Determinar la efectividad bacteriostática del Hidróxido de calcio Ultracal XS® (ultradent).

## **2. ASPECTOS METODOLÓGICOS:**

### **2.1. TIPO DE ESTUDIO:**

Experimental.

### **2.2. OBJETO DE ESTUDIO:**

- Hidróxido de calcio (EUFAR)® y Ultracal XS®)
- *Enterococcus faecalis*
- Lidocaína 2% y Clorhexidina 2%.

### **2.3 MUESTREO**

Por conveniencia

## 2.4 VARIABLES

| VARIABLE                                      | DEFINICION                                                                                                                        | CATEGORIZACION | OPERACIONALIZACION | E. MEDIDA                                           | INSTRUMENTO                                     |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|--------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <i>Enterococcus faecalis</i>                  | Es un coco Gram-positivo anaerobio facultativo, fermentativo, no forma esporas, asociado a infecciones endodónticas persistentes. | Cuantitativo.  | nominal            | Según halos de inhibición de crecimiento bacteriano | Incubación en medio de cultivo tipo Agar a 35°C |
| Hidróxido de calcio Eufar xs ®                | Pasta de hidróxido de calcio que tiene ph12.5, acuosa y radiopaca, agente antibacteriano,                                         | Cualitativo.   | ordinal            | Gramos                                              | Antibiograma y CMI                              |
| Hidróxido de calcio Eufar ®                   | Compuesto por hidróxido de calcio, óxido de zinc sulfato de vario. Medicamento intraconducto, ph alcalino, inhibidor bacteriano,  | Cualitativo.   | ordinal            | Mililitros                                          | Antibiograma y CMI                              |
| Clorhidrato de Lidocaína al 2% con Epinefrina | Anestésico local asociado con un vasoconstrictor. Véase lidocaína y epinefrina.                                                   | Cualitativo.   | ordinal            | Mililitros                                          | Antibiograma y CMI                              |
| Peróxido de hidrógeno                         | Sustancia antiséptica. Pertenece al grupo de las bisguanidas utilizadas en concentraciones de 0.2%, 0.12% y 0.10 %                | Cualitativo.   | ordinal            | Mililitros                                          | Antibiograma y CMI                              |
| TIEMPO                                        | Magnitud física que mide la duración o separación de acontecimientos sujetos a cambio.                                            | Cuantitativo.  | nominal            | 24- 48 Horas.                                       | Reloj.                                          |



## 2.5 INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

- Tabla de Concentración Mínima Inhibitoria de la Norma técnica colombiana, NTC 2455, 3ra actualización, Desinfectantes, limpiadores líquidos para uso doméstico, ed. Icontec).

Se incluye en anexos

## 2.6 PROCEDIMIENTO

La Efectividad bacteriostática de dos tipos de hidróxido de calcio frente al *Enterococcus faecalis*, es un estudio de tipo experimental en el cual se utilizó un cultivo de *Enterococcus faecalis* cultivado en anaerobiosis, proveniente del laboratorio LEMA de la universidad de los andes, este laboratorio realizo dos tipos de ensayos un antibiograma y un ensayo de desinfección llamado concentración mínima inhibitoria.

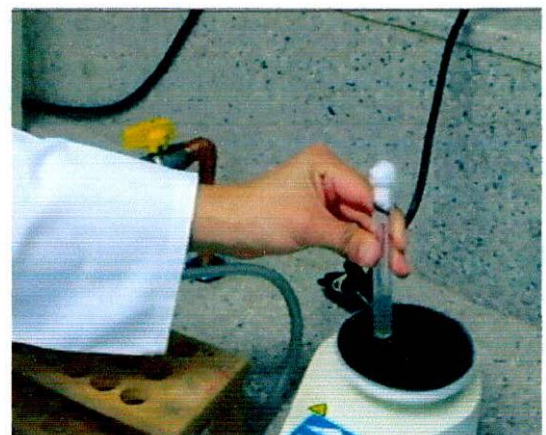
### 2.6.1. Antibiógrama:

1. Se siembra una cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, microorganismo anaerobio facultativo; por medio de la anaerobiosis en 4 cajas de petri que contienen medio de agar Muller Hilton.



**Figura 1. Cepa *Enterococcus faecalis*.**

2. Primer ensayo: Se realiza la mezcla de Hidróxido de calcio EUFAR a una concentración de 0.09 gramos de polvo y 300 micro litros de solución anestésica Lidocaína al 2%, luego esta solución se diluye en una caja de petri con la cepa de *Enterococcus faecalis*.



**Figura 2 y 3. Cantidad y mezcla del Hidróxido de Calcio con su respectivo vehículo.**

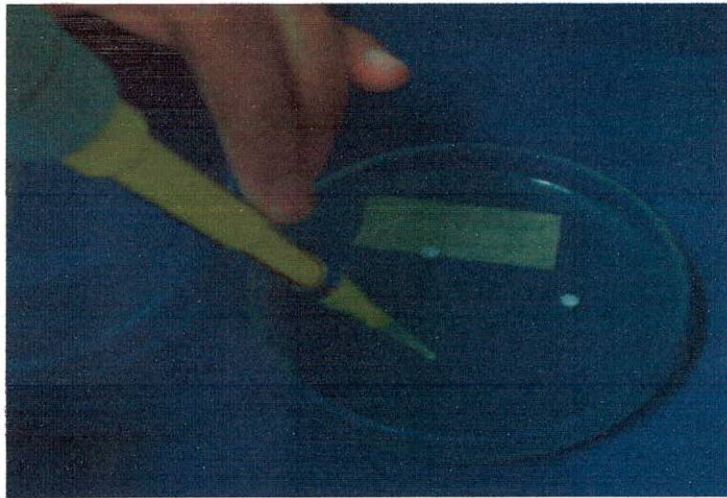
3. Segundo ensayo: Se realiza la mezcla de Hidróxido de calcio EUFAR a una concentración de 0.09 gramos de polvo y 300 micro litros de Clorhexidina al 2%, luego esta solución se diluye en una caja de petri con la cepa de *Enterococcus faecalis*.



**Figura 4. Inoculación de la mezcla en los tubos de ensayo.**

4. Tercer ensayo: A la caja de petri que contiene la cepa de *Enterococcus faecalis*, se le aplica el Hidróxido de calcio Ultracal XS ®.





**Figura 5. Colocación del medicamento en la caja de Petri que contiene cepa de *Enterococcus*.**

5. Cuarto ensayo: Este contiene el grupo control en donde estará únicamente la cepa de *Enterococcus faecalis*, este ensayo se utiliza para establecer un control de calidad interno y asegurar que el procedimiento ofrezca un resultado confiable.



**Figura 6. Inoculación de la bacteria, para tener un grupo control.**

6. Luego del procedimiento anteriormente nombrado se llevan las cajas de petri a la incubadora a 35 ° C, durante 48 horas, en donde se observaran los cambios en dos tiempos a las 24 y a las 48 horas.



**Figura 7. Rotulación de las cajas de Petri, llevan a la incubadora.**

7. Recolección de resultados en las primeras 24 horas.

8. Recolección final de resultados completadas las 48 horas.

#### **2.6.2. Concentración mínima inhibitoria:**

Este ensayo contiene diferentes concentraciones del producto a analizar en este caso (Hidróxido de calcio (Eufar®) con Lidocaína y clorhexidina e hidróxido de calcio Ultracal XS ®), estos son inoculados con *Enterococcus faecalis*; después de un adecuado periodo de inoculación, los tubos de ensayo en los que se encuentra la mezcla son examinados por la presencia o

ausencia de crecimiento bacteriano según la concentración a la que se encuentre.

.La actividad del producto a analizar debe ser la menos concentración en la cual es inhibido el crecimiento del microorganismo.

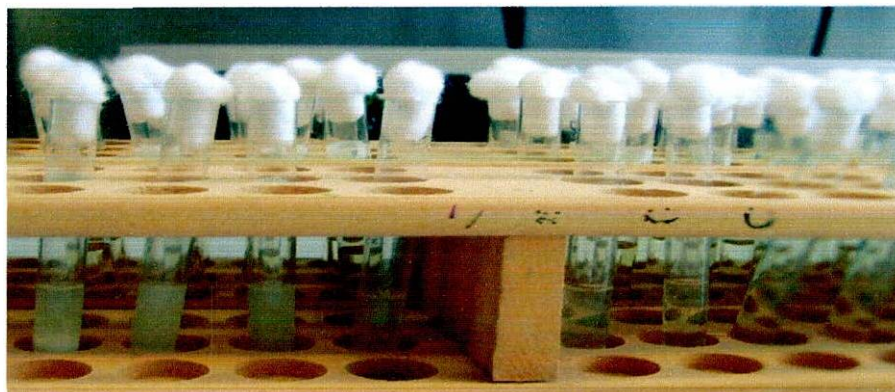
1. Se lavan los microorganismos con solución salina a 0.85%.



*Figura 8. Cultivación y lavado de la bacteria antes de comenzar el estudio.*

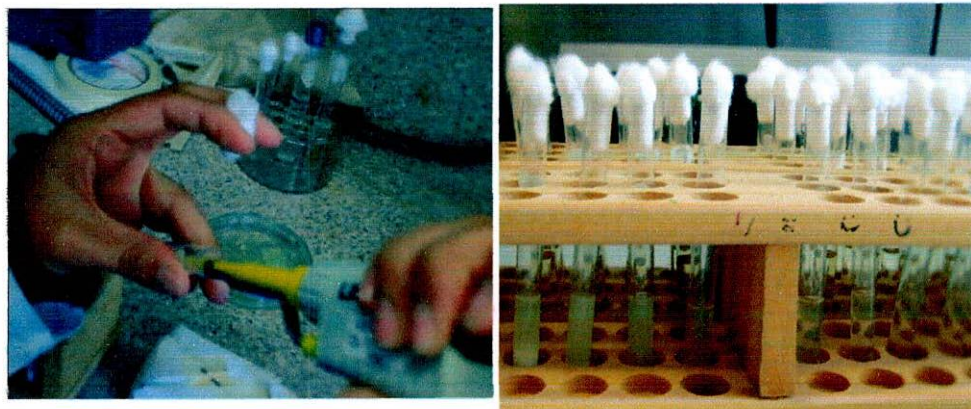
2. Anteriormente los microorganismos fueron sometidos a un crecimiento en el caldo de Tripticasa de soya (TSB) por 24 horas.
3. Luego se coloca una 4 filas de 12 tubos en una gradilla, cada una de ellas dispuesta para concentraciones al 1%, 2%, 5% y 100%, en donde al primer tubo de cada fila se le dispensan 4ml de TSB y 2.4ml de TBS del tubo # 2 al 12.





**Figura 9. Colocación en la gradilla de los tubos a inocular.**

4. Se dispensan 0.4ml de la solución a analizar (Hidróxido de calcio (Eufar®) – Clorhexidina 2%) en el tubo primer tubo de la fila de doce quedando este con un volumen total de 4.4ml.



**Figura 10 y 11. Inoculación del medicamento en los tubos de ensayo.**

5. Se mezclan las soluciones en el vortex y se transfieren 2ml del primer tubo al segundo tubo de la misma fila.



**Figura 12. Mezcla de las soluciones a estudiar.**

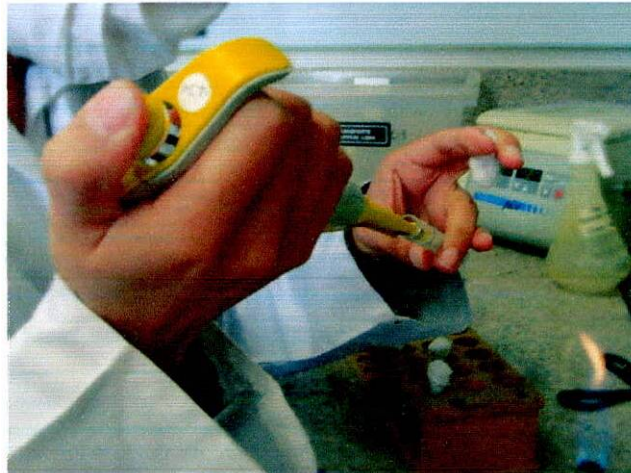
6. Este procedimiento se repite en los tubos restantes hasta llegar al último tubo de la fila (# 12) en donde se descartan 2ml, para que el volumen total de este sea 2.4ml.

7. Luego se inocula cada tubo con 0.1ml (100 micro – litros) de la bacteria; *Enterococcus faecalis*.



**Figura 13. Inoculación del *Enterococcus faecalis* en los 12 tubos de ensayo.**

8. Se inocula un tubo de control que contiene solamente 0.1ml del medio de cultivo TSB.



**Figura 14. Tubo de ensayo únicamente con el medio de cultivo.**

9. Se inocula un tubo de control de contiene solamente 0.1ml del microorganismo *Enterococcus faecalis*.
10. Se incubaron los tubos de ensayo por 48 horas a 35 ° C.
11. Pasadas las 48 horas las soluciones contenidas en los tubos de ensayo deben incubarse en cajas de *petri* en agar nutritivo para la toma de resultados.





***Figura 15. Inoculación de la mezcla de los tubos de ensayo a cajas de Petri.***

12. Se toma una caja de petri para dos tubos, por fila de 12 tubos se utilizaron 6 cajas. Se toma el tubo # 1 y con un asa estéril se lleva la solución al agar en la caja de petri hasta completar este procedimiento con los tubos restantes de cada fila.



***Figura 16. Toma de información, para recolección de datos.***

13. Se colocan las cajas de petri en la incubadora a 35 ° C, durante 24 horas.

14. Posteriormente para la toma de resultados la concentración mínima inhibitoria se expresa en miligramos por litro (MG/L) y el resultado se reporta tomando el tubo inmediatamente anterior al cual hubo crecimiento bacteriano, realizando esta lectura de derecha a izquierda (del tubo # 12 al #1).

15. Luego según el tubo en donde no halla crecimiento bacteriano se verifica en una tabla la concentración y los MG/L a los que se debe encontrar Hidróxido de calcio (Eufar®) – Clorhexidina 2% para inhibir el crecimiento bacteriano. (*Norma técnica colombiana, NTC 2455, 3ra actualización, Desinfectantes, limpiadores líquidos para uso doméstico, ed. Icontec*).<sup>(31)</sup>

## **2.7 METODO ESTADISTICO**

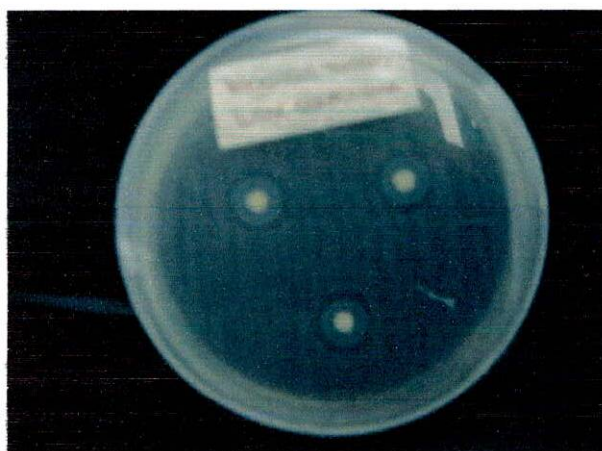
Los resultados se presentan en tablas y figuras, describiendo los hallazgos obtenidos en el Antibiograma y Concentración Mínima Inhibitoria, teniendo en cuenta el Hidróxido de calcio y sus diferentes vehículos.

## **3. RESULTADOS**

### **3.1 Antibiograma**

A las 24 horas se observo el inicio de formación de un halo de inhibición alrededor del medicamento; pasadas las 48 horas en el GE – A1 Y GE – B, hubo formación de halo de inhibición, mientras que en el GE- A2, si hubo inhibición del microorganismo creando un promedio de 1.243 cm 2. (Ver Tabla 1 y figura 17)

**Tabla 1. Grado De inhibición bacteriana (Antibiograma)**



**Figura 17. Resultados Antibiógrama GE-A2 A las 24 horas.**

### 3.2 Concentración Mínima Inhibitoria

| MUESTRA                                                                                  | ANÁLISIS                                                                               | TÉCNICA             | RESULTADO                                                                                                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hidróxido de calcio<br>EUFAR disuelto<br>Lidocaína<br>( GE- A1)                          | Evaluación de la actividad anti microbiana para <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC2921. | Prueba de difusión. | No presentó Inhibición<br>Área: 0 cm 2                                                                     |
| Hidróxido de calcio<br>EUFAR disuelto<br>Clorhexidina<br>( GE- A2)                       | Evaluación de la actividad anti microbiana para <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC2921. | Prueba de difusión. | Presentó inhibición<br>Área 1: 1,183 cm2<br>Área 2: 1,329 cm2<br>Área 3: 1,217 cm2<br>Promedio= 1,243 cm 2 |
| Evaluación de la actividad antimicrobial del Hidróxido de calcio<br>ULTRACAL<br>( GE- B) | Evaluación de la actividad antimicrobial para <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC2921    | Prueba de difusión. | No presentó Inhibición<br>Área: 0 cm 2                                                                     |



Después de pasar las concentraciones al 1%, 2%, 5% y 100% de cada uno de los grupos GE – A1, GE – A2 y GE-B a cajas de Petri, se tomo el 100% como resultado final el GE – A1 tubo inhibición en el tubo # 2; GE – A2 tubo # 8 y GE – B tubo # 2; Según el tubo donde se presento inhibición se saca el valor mg/l. (Figura 18 y Tabla 2)

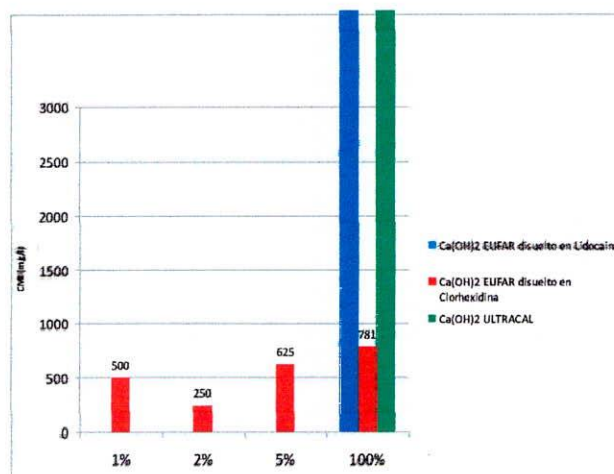


**Figura 18.** Resultados CMI. Tubo # 8 sin crecimiento bacteriano.

| MUESTRA                                                                            | ANÁLISIS                                                                                        | CMI 1%                 | CMI 2%                 | CMI 5%                 | CMI 100%           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
| Hidróxido de calcio EUFAR disuelto Lidocaína ( GE- A1)                             | Coficiente mínimo inhibitorio CMI para <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 método NTC 2455. | No presentó inhibición | No presentó inhibición | No presentó inhibición | CMI = 50.000 mg/l. |
| Hidróxido de calcio EUFAR disuelto Clorhexidina ( GE- A2)                          | Coficiente mínimo inhibitorio CMI para <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 método NTC 2455. | CMI = 500 mg/l.        | CMI = 250 mg/l.        | CMI = 625 mg/l.        | CMI = 781 mg/l.    |
| Evaluación de la actividad antimicrobial del Hidróxido de calcio ULTRACAL ( GE- B) | Coficiente mínimo inhibitorio CMI para <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 método NTC 2455. | No presentó inhibición | No presentó inhibición | No presentó inhibición | CMI = 50.000 mg/l. |

**Tabla 2.** Resultados de concentración mínima inhibitoria según la concentración a la que se utilizo el medicamento

En la figura 19 se observa que el único grupo que presentó inhibición en todas las concentraciones a las que fue sometido el medicamento fue GE – A2.



**Figura 19.** Comparación de la concentración mínima inhibitoria de EUFAR® con dos vehículos y ULTRACAL® para la inhibición del *Enterococcus faecalis*.

#### 4. DISCUSIÓN

Se selecciono, el *Enterococcus faecalis* para este estudio porque es una bacteria facultativa que al ser aislada se encuentra dentro de los conductos radiculares infectados y puede estar relacionada con el fracaso del tratamiento del conducto radicular. Sin embargo, la importante participación del *Enterococcus faecalis* con enfermedades asintomáticos periapicales apoya la hipótesis de que los *Enterococcus* son microorganismos en general no muy virulento, y su emergencia como patógenos puede ser mucho más relacionada con la resistencia a varios agentes antimicrobianos que a la alta virulencia.

Los estudios han revelado que el *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad de penetrar en los túbulos dentinarios, a veces en un grado de profundidad, esta propiedad puede permitir que esta especie pueda escapar de la acción de los instrumentos de endodoncia y soluciones de irrigación utilizadas durante la preparación biomecánica. Estudios realizados por Stephen (15) en 2005, nos dicen que A pesar de que el mecanismo exacto de acción del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  aún es desconocido, su actividad antimicrobiana es generalmente considerada estar relacionada con la liberaciones de iones de hidroxilo en un entorno acuoso produciendo (a) Daño a la membrana citoplasmática (b) Desnaturalización de proteína, (c) daño en el DNA.

Según estudios realizados por Gomes, Souza y Col (25) concluyeron que el gel de Clorhexidina sola inhibe completamente el crecimiento del *Enterococcus Faecalis*. La combinación de Hidróxido de Calcio y Clorhexidina tiene una acción antibacteriana al 100% en sus primeros días. Esta acción se da debido a su pH alto (12.8) (Clorhexidina pH 7.0, Hidróxido de Calcio pH 11.0), sugiriendo un incremento de la capacidad de la molécula ionizada de Clorhexidina.



Basado en los resultados de esta investigación el hidróxido de calcio al ser asociado con vehículos como la clorhexidina, represento una muy marcada eficacia ante el *Enterococcus faecalis*, muy posiblemente por su efecto al elevar el pH y ser efectivo con un pH ácido.

## 5. CONCLUSIONES

- Bajo las condiciones de este estudio la mezcla de Hidróxido de calcio con Lidocaína GE – A1; GE – A2 Clorhexidina y GE – B Ultracal XS, mostró en el antibiograma un mayor halo de inhibición en el GE –A2.
- Se observó que el Hidróxido de calcio junto con la clorhexidina GE – A2, presentan la mayor inhibición del *Enterococcus faecalis*, por esto se reconoce este como el mejor vehículo en su utilización con el Hidróxido de calcio (EUFAR) ®.
- La efectividad bacteriostática del Hidróxido de calcio (EUFAR) ® es mayor que la del Hidróxido de calcio ULTRACAL XS (ULTRADENT) ®, frente al *Enterococcus Faecalis*.

## **6. RECOMENDACIONES**

Es importante que los estudiantes de pregrado, postgrado de Odontología y los profesionales de la salud oral tengan en cuenta los resultados obtenidos en esta investigación para que de esta manera puedan tomar las decisiones correctas con respecto a la elección del medicamento y vehículo ideal para que la terapia Endodóntica tenga éxito y pueda evitarse o eliminarse el crecimiento bacteriano.

Además es importante que se pueda retomar la investigación y que los estudiantes durante el desarrollo de esta tengan en cuenta lo siguiente. La utilización de un vehículo neutro en este tipo de comparaciones y observaciones para evitar sesgos y tener un grupo de mayor control.

Este proyecto de investigación puede ser utilizado como base para ampliar los conocimientos y poder ser una investigación reconocida y patentada con los correspondientes aportes.

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Canalda S. Y Col. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. Ed. Masson. Barcelona 2001. Capítulo 6 y 7.
2. Cohen S. y Col. PATHWAYS OF THE PULP. Ed. Mosby. St Louis. 2002. (8): 10 – 31.
3. López M. Etiología, Clasificación y Patogenia de la patología pulpar y periapical. Medicina oral - patología oral – bucal. 2004. (9): 52-62.
4. Berrios Q. y Col. Respuesta pulpar frente a diferentes agentes cementantes. *Revista Estomatología*. 2004. 14(1-2): 84-88.
5. Siqueira F. y col. Disinfection by Calcium Hydroxide Pastes of Dentinal Tubules Infected with Two Obligate and One Facultative Anaerobic Bacterium. *Journal Endodontic*. December 1996. 22: 674 – 676.
6. Bystrom A. y Col. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scan J Dent Rest*. 1981; 89(3): 21-28.
7. Roy H. Evaluation of the Antimicrobial Potential Of Calcium Hydroxide as an Intracanal Medicament. *Journal of Endodontics*. 1983; 9 (9): 372 – 374.
8. B Athanassiadis y Col. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Australian Dental Journal Supplement*. 2007; 52. (1): 64- 82.
9. Schäfer E. Y Col. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Two Calcium Hydroxide Formulations against *Enterococcus Faecalis*. *Journal Endodontics*. 2005. 31(1): 53 – 55.
10. Rocas, Isabela N. y col. Association of *Enterococcus faecalis* With Different Forms of Periradicular Diseases. *Journal of Endodontic*. May 2004. 30; (5): 315 – 320.
11. Peciuliene V. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root –filled canals in a Lithuanian population. *Journal of Endodontic*. 2000. 26; (12): 593-95.
12. André M. Effectiveness of Stannous Fluoride and Calcium Hydroxide against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontic*. 2003; 29(4): 259 – 260.
13. Pardi G. y Col. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el Tratamiento Endodóntico, *Acta Odontológica Venezolana*. 2009; 47(1): 1 – 11.



14. Denotti G. y Col. In Vitro of *Enterococcus faecalis* Adhesion on Various Endodontic Medicaments. The open dentistry journal. 2009; 3: 120 – 124.
15. Stephen J. y col. Dentinal Tubule Disinfection Using Three Calcium Hydroxide Formulations. Journal of Endodontic. January 2005. 31; (1): 50 – 52.
16. Silva H. y Col. Comparación del hidróxido de calcio como medicamento intraconducto, utilizando vehículos viscosos y acuosos. Estudio *in Vitro*. Revista de la Asociación Dental Mexicana. Julio – Agosto 2005; 62(4):137-141.
17. Morgana E. y Col. In Vitro Evaluation of the Susceptibility of Endodontic Pathogens to Calcium Hydroxide Combined with Different Vehicles. Braz Dent Journal. 2005; 16(3): 175 – 180.
18. Behnen, M. y Col. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. Journal of Endodontic. December 2001; 27(12): 765 – 767.
19. Amaiz A. Universidad Central de Venezuela. Hidróxido de calcio y su aplicación en la terapéutica endodóntica. Journal Endodoncia 2001.
20. Jiménez, A y col. Bases biológicas del hidróxido de calcio con respecto a su acción antimicrobiana y neoformación de tejido. Revista de odontología. Pontificia universidad Javeriana. 2000; (1): 22 – 25.
21. Barquero León L.; Rodríguez Cavallini E. Efecto Antibacteriano in Vitro del Hidróxido de Calcio. UCR. 2005; 7: 77 - 80
22. Thronstad, L. y col. pH Changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. Journal Endodontic. 1981; 7(1): 17 – 21.
23. Sousa C. y Col. Comparative Evaluation of Antimicrobial Action of Mta, Calcium Hydroxide and Portland Cement, Journal of Applied Oral Science. 2006; 14(5): 330-333.
24. Yu- heng Lin y col. Effectiveness of Selected Materials Against *Enterococos faecalis*: Part 3. The Antibacterial Effect of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine on *Enterococos faecalis*. September 2003; 29(9): 565 – 566.
25. Gomes B. Souza y Col. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. International Endodontic Journal. 2003; 36 (2): 267-275.

26. Ertug˘rul E. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006. 10(2): 27-31.
27. D. Kandaswamy y Col. Dentinal tubule disinfection with 2% chlorhexidine gel, propolis, morinda citrifolia juice, 2% povidone iodine, and calcium hydroxide, International Endodontic Journal.2010;43(1): 419 – 423.
28. Cristóbal, Cotarelo B., y col. Apexificación con hidróxido de calcio vs. tapón apical de MTA. Gaceta dental: Industria y profesiones, ISSN 1135-2949. 2005; 14 (9): 58 – 79.
29. Sorlano CA. y col. Endodontic therapy associated with calcium hydroxide as an intracanal dressing: microbiology evaluation by the checkerboard DNA- DNA hybridization technique. Journal of endodontic. February 2005; 31(2): 115 – 120.
30. Leal, D., Pulgarín, M. Difusión del Ion calcio de cuatro materiales con base en hidróxido de calcio: Calasept - Ultracal, conos de Hidróxido de calcio, pur – Eufar. Colegio Odontológico Colombiano. Tesis postgrado de endodoncia. 1999. T.O.E 0042.
31. Norma Técnica Colombiana, NTC 2455, 3ra actualización, Desinfectantes, limpiadores líquidos para uso doméstico, ed. Icontec.

## ANEXOS

### ANEXOS 1

| % de<br>pro-<br>ducto<br>utilizado | Número de tubo |        |        |        |       |        |       |       |       |      |      |      |
|------------------------------------|----------------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|------|------|------|
|                                    | 1              | 2      | 3      | 4      | 5     | 6      | 7     | 8     | 9     | 10   | 11   | 12   |
| 1.0 %                              | 1 000          | 500    | 250    | 125    | 62.5  | 31.2   | 15.6  | 7.8   | 3.9   | 1.9  | 1.0  | 0.5  |
| 2.0 %                              | 2 000          | 1 000  | 500    | 250    | 125   | 62.5   | 31.2  | 15.6  | 7.8   | 3.9  | 1.9  | 1.00 |
| 5.0 %                              | 5 000          | 2 500  | 1250   | 625    | 312.5 | 156.25 | 78.13 | 39.06 | 19.53 | 9.77 | 4.88 | 2.44 |
| 100 %                              | 100 000        | 50 000 | 25 000 | 12 500 | 6 250 | 3 125  | 1 563 | 781   | 391   | 195  | 98   | 49   |