



ACTIVIDAD ANTIMICROBIAL DE SEIS VEHICULOS ASOCIADOS AL HIDROXIDO DE CALCIO

Julián Colorado¹, Mauricio Gómez¹, Dirceu Guacabare¹,
William López¹, Paola Martínez², César Torres¹,
Avellaneda P³,
Caicedo M⁴.

Área: Endodoncia; Modalidad: Oral; Categoría: Pregrado - Postgrado.

RESUMEN

Propósito: Observar la actividad antibacterial del Hidróxido de Calcio asociado a los vehículos Anestesia sin epinefrina, Anestesia con epinefrina, Glicerina, Agua Destilada, Suero Fisiológico, Clorhexidina sobre el *Enterococo Faecalis*. **Materiales y Método:** El *Enterococo Faecalis* se obtuvo en el Instituto Nacional de Salud, se cultivo en caldo estéril tripticasa, verificando a las 24 horas su crecimiento. Se tomaron 3 cajas Petri con agar Muller Hilton, se hizo la prueba de Escala de Mackfaller estandarizando así la siembra homogénea del *Enterococo Faecalis* en cada una de las cajas. Seguidamente se mezcló el hidróxido de calcio así: Grupo 1: anestesia sin epinefrina; Grupo 2: Anestesia con epinefrina; Grupo 3: Glicerina; Grupo 4: Agua destilada; Grupo 5: Suero fisiológico; Grupo 6: Clorhexidina. Se impregnaron y se colocaron en cada caja 6 discos de papel. Los datos se recolectaron en una ficha categorizando la sensibilidad así: ausente, leve, moderada, marcada. **Resultados:** a las 24 horas se observó ausencia de sensibilidad en los grupos 1 y 4; leve grupo 2; moderada grupos 3 y 6; y marcada grupo 5. **Conclusiones:** El hidróxido de calcio asociado con anestesia sin epinefrina y con agua destilada no mostró leve sensibilidad. Hubo moderada sensibilidad del hidróxido de calcio asociado con glicerina, clorhexidina y anestesia con epinefrina. El hidróxido de calcio asociado al suero fisiológico mostró marcada sensibilidad al enterococo faecalis.

Palabras Claves: Enterococo Faecalis, Bactericida, Hidróxido de Calcio, Medios de cultivo.

ABSTRACT

Purpose: To observe antibacterial activity of Calcium Hydroxide associated to vehicles. Anesthesia with epinephrine, anesthesia without epinephrine, glycerin, distilled water, physiological serum, chlorhexidine on *faecalis enterococcus*. **Materials and Method:** *Faecalis enterococcus* was obtained in the Instituto Nacional de Salud, it was stored to 40°, and it was cultured in tripticase sterile broth, verifying its growing within 24 hours. It was taken three Petri boxes with agar blood's lamb. (Muller Hilton). It was done Scale Test of Mackfaller standardizing in this way the homogenous seed of faecalis enterococcus in each one of the boxes. Following, calcium hydroxide was mixed as follows: Group 1: Anesthesia without epinephrine; Group 2: Anesthesia with epinephrine; Group 3: Glycerin; Group 4: Distillated Water; Group 5: Physiological serum; Group 6: Chlorhexidine. Six paper disks were impregnated and placed in each box. Data was collected in a data card classifying sensitivity in this way: absent, slight, moderated, severe. **Results:** Within 24 hours it was observed absence of sensitivity in groups 1 and 4; Slight in Group 2; Moderate in Groups 3 and 6 and Severe in Group 5. **Conclusions:** The Calcium Hydroxide associated with anesthesia without epinephrine and with distilled water did not showed sensitivity. There was moderate sensitivity of calcium hydroxide associated with glycerin and chlorhexidine. Calcium hydroxide associated to physiological serum showed severe sensitivity to *faecalis enterococcus*.

Kew words: *Faecalis enterococcus*, bactericide, calcium hydroxide, culture conditions.

¹ Estudiantes Noveno Semestre Odontología.

² Odontóloga Residente Endodoncia.

³ Odontóloga Especialista en Endodoncia.

⁴ Odontóloga Especialista en Epidemiología.

INTRODUCCION

El éxito del tratamiento endodóntico depende de la remoción de las bacterias del conducto radicular, debido a que las bacterias invaden los túbulos dentinales, las ramificaciones del conducto radicular y delta apicales, siendo así responsable de la persistencia de la infección endodóntica (1). El tratamiento endodóntico está dirigido esencialmente hacia la prevención y control de infecciones periradiculares y pulpares (2). Dada la relevancia de microorganismos para la patogénesis de lesiones periradiculares, es claro que el resultado de la terapia endodóntica dependa de su reducción o eliminación. La completa preparación químico mecánica del canal pulpar radicular puede ser considerada un paso esencial en la desinfección (3,4). Sin embargo, la eliminación total de las bacterias es difícil de llevar a cabo (1,5). La irrigación con agentes antimicrobiales y el medicamento intraconducto Hidróxido de Calcio (6), son usados con el propósito de eliminar las bacterias sobrevivientes (7,8). EL Hidróxido de Calcio es una sustancia fuertemente alcalina, la cual tiene un Ph de aproximadamente 12.5 (9,10). En una solución acuosa, el Hidróxido de Calcio se disocia en iones calcio e hidroxilo y puede difundirse a través de los túbulos dentinales hasta llegar a la región afectada (7, 10, 12, 13,14), cambiando el Ph ácido a Ph alcalino. Varias propiedades biológicas han sido atribuidas a esta sustancia, tales como actividad antimicrobial, habilidad para disolver tejidos, inhibición de reabsorción dental e inducción de reparación por formación de tejidos duro (15, 16, 17, 18,19). Adicionalmente actúa como barrera física previniendo la reinfección del conducto radicular e interrumpiendo el suplemento de nutrientes a las bacterias (20).

El hidróxido de calcio se mezcla con una sustancia que actúa como vehículo formando una pasta, con el fin de mejorar su propiedad antibacterial, radiopacidad, fluidez y consistencia. El vehículo puede facilitar o inhibir la dispersión iónica desde la pasta, produciendo una liberación iónica rápida o prolongada (21, 22, 23,24).

Diferentes etiologías causan el fracaso de los tratamientos endodónticos realizados, entre ellas la más comúnmente reportada es la bacteremia producida por la persistencia de algunos microorganismos, siendo el de mayor porcentaje el *Enterococo Faecalis* (25, 26, 27,28), el cual es extremadamente resistente a los diferentes medicamentos intraconductos. Este microorganismo está presente en el 70% de las lesiones periapicales (2,29); también se encuentra en menor proporción y de igual manera la *Candida albicans* (30,31).

Por todo lo anterior, es clara la necesidad de conocer cual es la efectividad antimicrobiana de los vehículos asociados al hidróxido de calcio en diferentes tiempos (24 y 48 horas), y la capacidad de eliminación del *Enterococo Faecalis* de tal manera que proporcione mayor eficacia clínica. Por lo que se plantea el siguiente interrogante:

¿Cuál de los seis vehículos asociados con el hidróxido de calcio tiene mejores propiedades antimicrobiales?

El proposito de este es observar la actividad antibacterial del Hidróxido de Calcio asociado a los vehículos Anestesia sin epinefrina, Anestesia con epinefrina, Glicerina, Agua Destilada, Suero Fisiológico, Clorhexidina sobre el *Enterococo Faecalis*.

MATERIALES Y METODOS

Este estudio experimental, in-vitro, se realizo en el departamento de Microbiología del Colegio Odontológico Colombiano, con el apoyo, de una microbiologa.

El Enterococo Faecalis se obtuvo en el Instituto Nacional de Salud. Para la realización de los cultivos se hizo una previa desinfección del tapón del vial, se rehidrata el liofilizado inyectando en el vial 1.0 ml de caldo estéril (caldo nutritivo, tripticasa soya e infusión cerebro corazón). Se resuspendió el liofilizado hasta que se obtuvo homogeneidad; con la misma jeringa se aspiró la suspensión y se sembró en los medios sólidos adecuados y en un caldo de enriquecimiento, luego se realizaron dos subcultivos antes de utilizar el aislamiento. Se tomaron 3 cajas de agar sangre de cordero, se hicieron mezclas de hidróxido de calcio con los diferentes vehículos los cuales se impregnaron en discos de papel de filtro, se hizo la prueba de conteo de bacterias por el método de la escala de Mackfaller para verificar que el numero de bacterias sembrado en cada medio fuera el mismo, después con asas calibradas se hizo la microorganismo liofilizado Enterococos Faecalis, luego se colocaron los discos previamente impregnados con las sustancias en las tres cajas, dejando 6 discos por caja. Se observó a las 24 horas el nivel de sensibilidad de las colonias alrededor de los discos.

Todos los procedimientos y la cantidad de microorganismos por grupo de experimento fueron estandarizados por lo tanto el número de tamaño de muestra no afecta los resultados.

Los datos se recolectaron en una ficha técnica, categorizando la sensibilidad al Enterococo Faecalis así: No sensibilidad: ausencia de halo; Leve sensibilidad: halo muy pequeño y transparente; Moderada sensibilidad: halo mayor tamaño y color

oscuro; Marcada sensibilidad: halo de mayor tamaño y mucho más oscuro.

RESULTADOS

A las 24 horas se observo el nivel de sensibilidad de las colonias alrededor de cada uno de los discos impregnados con la mezcla de hidróxido de calcio con los seis vehículos experimentales. Ver tabla 1.

Tabla N° 1 Sensibilidad del Enterococo Faecalis frente a cada vehículo mezclado con Hidróxido de Calcio (24 horas)

Nivel de sensibilidad	Vehículos mezclados con Hidróxido de Calcio
No sensibilidad	
Leve	Grupo 1 y 4
Moderada	Grupos 2,3 y 6
Marcada	Grupo 5

Grupo 1: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + Anestesia sin epinefrina.

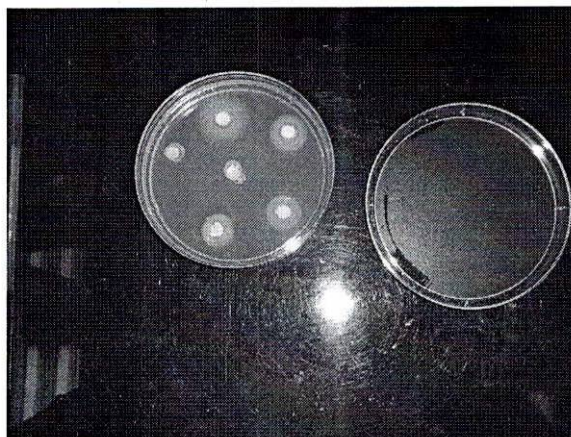
Grupo 2: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + Anestesia con epinefrina.

Grupo 3: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + Glicerina.

Grupo 4: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + Agua Destilada.

Grupo 5: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + Suero Fisiológico.

Grupo 6: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + Clorhexidina.



DISCUSION

El Enterococo Faecalis fue seleccionado para este estudio experimental porque es la bacteria aislada que más comúnmente causa fracasos en los tratamientos endodónticos (26,28). Basado en estos reportes, se dice que las bacterias gram + pueden causar persistencia de las infecciones endodónticas, por lo tanto la investigación de su prevalencia es relevante. Este microorganismo puede sobrevivir a la preparación biomecánica y aun después de la terapia con hidróxido de calcio. Siquiera y Lopes dicen que la propiedad antimicrobial del hidróxido de calcio resulta de la liberación de iones hidroxil. Ellos dicen que los iones hidroxil matan las bacterias por (a) dano a la membrana citoplasmática, (b) desnaturalización de las proteínas, (c) dano al DNA (16).

McHugh y col. Encontraron que un Ph de 10.5 a 11.0 retarda el crecimiento de E. Faecalis, mientras un Ph de 11.5 o mayor destruye el E. Faecalis (32). El E. Faecalis es capaz de sobrevivir como una especie única dentro del conducto, por lo que es ideal para este estudio.

Basado en los resultados de este estudio, el hidróxido de calcio asociado con suero fisiológico tuvo una marcada sensibilidad al E. Faecalis, posiblemente esto se debe a la reacción química de la mezcla presentando un hidróxido de sodio el cual eleva el Ph.

CONCLUSIONES:

Bajo las condiciones de este estudio, la mezcla de hidróxido de calcio con anestesia sin epinefrina y con agua destilada mostró leve sensibilidad sobre el Enterococo Faecalis.

Se observó moderada sensibilidad al Enterococo Faecalis con la mezcla de hidróxido de calcio con glicerina, clorhexidina y anestesia con epinefrina.

El hidróxido de calcio asociado al suero fisiológico mostró marcada sensibilidad al Enterococo Faecalis.

AGRADECIMIENTO

Los investigadores agradecen a la Dra. Olga Cadena, Microbióloga, por su apoyo y participación en la realización y lectura de los cultivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Siquiera JR. A etiology of Root Canal Treatment Failure: Why Well-treated teeth can Fail. International Endodontics Journal 2001; 34: 1-10.
2. Pinheiro E., et al. Microorganisms from canal of root filled teeth with periapical lesions. International Endodontics Journal 2003; 36: 1-11.
3. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scan J Dent Rest 1981;89:321-8.
4. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. Dent Clin North Am 1974;18:269-96.
5. Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. J Endod 1990;16:498-504.
6. Barbosa C., Reginaldo B., Siqueira Jr., Milton de Uzeda. Evaluation of the Antibacterial Activities of Calcium Hydroxide, Chlorhexidine, and Camphorated Paramonochlorophenol as Intracanal Medicament. A Clinical y Laboratory Study. JOE 1997; 23(5).
7. Spangberg LSW. Intracanal medication. In: Ingle JI, Bakland LK,

- eds. Endodontics. 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994: 627-40
8. Staehle, H., Spiess, V., Heinecke, A., Muller, H. Effect Of Root Canal Filling Materials Containing Calcium Hydroxide On The Alkalinity Of Root Dentin. Endod Dent Traumatol, 1995, 11: 163-8.
 9. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, and Riis I. PH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxides. Journal Endodontics Vol. 7 No.1,1981.
 10. Simon, S., Bhat, K., Francis, R. Effect Of Four Vehicles On The Ph Of Calcium Hydroxide And The Release Of Calcium Ion. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1995, 80: 459-64.
 11. Avny WY, Heiman GR, Madonia JV, Wood NK, Smulson MH. Autoradiographic study of intracanal diffusion of aqueous and camphorated parachlorophenol in endodontics. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1973; 36: 80-9.
 12. Alacam, T., Yoldas, O., Gulen, O. Dentin penetration of 2 calcium hydroxide combinations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1998, 86: 469-72.
 13. Semra c, Ahmet S., Bahar O M. Dilek pH changes and calcium ion difusión from calcium hydroxide dressing materials through root dentin JOE 1999; 25 (5): 329-31.
 14. Caicedo R., Avellaneda P., Becerra C., Revelo I. Difusion Del Ion Calcio De Cuatro Materiales A Base De Hidróxido De Calcio: Ultracal XS Nueva Formula, Vitapex, Conos Hidróxido De Calcio Hygienic E Hidróxido Puro. Tesis De Grado. COC. 2002.
 15. Fuss Z., Weiss E. & Shalhav M. Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on enterococcus faecalis in vitro. International JOE 1997; 30: 397-402.
 16. Siqueira, J., Lopes, H. Mechanisms Of Antimicrobial Activity Of Calcium Hydroxide: A critical review. Int Endod J, 1999, 32: 361-69.
 17. Salazar C. Hidróxido De Calcio, Efectos Biologicos Y Mecanismos De Accion; Revista De La Facultad De Odontologia De Antioquia. Vol 5 N° 2. Pág 35 – 41
 18. Morse, D., O'Larnic, J., Yesilsoy, C. Apexification: Review Of The Literature. Quintessence Int, 1990, 21: 589-98.
 19. Leonardo R., et al. Ether Calcium hydroxide root canal sealers- histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. JOE 1977; 23 (7): 428-32.
 20. Weisenseel, J., Hicks, L., Pelleu, G. Calcium Hydroxide As An Apical Barrier. J Endod, 1987, 13: 1-5.
 21. Siqueira, Uzeda. Intracanal medicaments evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. JOE 1997; 23 (3): 1967-69.
 22. Siqueira, Uzeda. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide Journal of Endodontics 1998;24 (10): 663-4.
 23. Marques J.L., Conti R., Antionazzi J.H., Gutz Y., Avaliaçaco. Da

- Velocidade De Dissociacao Ionica Do hidróxido De Calcio Associado A Diferentes Veiculos. Revista Da USP. 1994. 8:81-7
24. Ozcelik, B., Tasman, F., Ogan, C. A Comparison Of The Surface Tension Of Calcium Hydroxide Mixed With Different Vehicles. J Endod, 2000, 26: 500-2.
25. Siqueira Jr. & Uzeda. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria . JOE 1996; 22(12): 674-6.
26. Rocas IN, Siqueira JF, Jr, Santos KR. Association of enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. J Endod 2004;30:315.
27. Han GY, Park SH, Yoon TC. Antimicrobial activity of Ca(OH)₂ containing pastes with enterococcus faecalis in vitro. J Endod 2001;27:328-32.
28. Sukawat C, Srisuwan T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with enterococcus faecalis. J Endod 2002;28:102-4.
29. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological estatus of root filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J 1998;31:1-7.
30. Waltimo T.M.T , E.K Sirén, & P.P Haapasalo. Susceptibility of oral Candida species to calcium hydroxide in vitro. Inter. Endo. J.1999; 32: 94-8.
31. Waltimo T. et al. In vitro Susceptibility of candida albicans to four disinfectants and thei combinations. International Endodontics Journal 1999; 32: 421-9.
32. McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Lazer PD. Ph required to kill enterococcus faecalis in vitro. J Endod 2004;30:2-18.