

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIAL DE SEIS VEHICULOS ASOCIADOS AL
HIDROXIDO DE CALCIO**

**Julián Colorado
Mauricio Gómez
Dirceu Guacabare
William López
Paola Martínez
César Torres**

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO
BOGOTÁ D.C.
2006**

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIAL DE SEIS VEHICULOS ASOCIADOS AL
HIDROXIDO DE CALCIO**

**Julián Colorado
Mauricio Gómez
Dirceu Guacabare
William López
Paola Martínez
César Torres**

**Asesor Científico:
Dra. Patricia Avellaneda.
O.D Especialista en Endodoncia**

**Asesor Metodológico:
Dra. Martha Lucia Caycedo
O.D Especialista Epidemiología**

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO
BOGOTA D.C.
2006**

AGRADECIMIENTO

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

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a nuestras familias, quienes nos brindaron apoyo incondicional y a todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION	Pág.
1. ASPECTOS TEÓRICOS CIENTÍFICOS	10
1.1 Planteamiento del problema	11
1.2 Justificación	11
1.3 Propósito	12
1.4 Marco teórico	12
1.5 Objetivos	23
1.5.1 Objetivo general	23
1.5.2 Objetivo específico	23
2. ASPECTOS METODOLÓGICOS	24
2.1 Tipo de estudio	24
2.2 Objeto de estudio	24
2.3 Población de estudio	24
2.4 Grupos experimentales	24
2.5 Variables	25
2.6 Instrumento de recolección de datos	26

2.7 Procedimiento	26
3. RESULTADOS	28
4. DISCUSIÓN	29
5. CONCLUSIONES	30
6. BIBLIOGRAFÍA	31

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 antimicrobiana, habilidad para disolver tejidos, inhibición de reabsorción dental e inducción de reparación por formación de tejidos duros (15, 16, 17, 18,19). Adicionalmente actúa como barrera física previniendo la reinfección del conducto radicular e interrumpiendo el suministro 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 antibacteriana, 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).

1. ASPECTOS TEORICO CIENTIFICOS

1.1 PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

Diferentes etiologías causan el fracaso de los tratamientos endodónticos, 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 24 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?

1.2 JUSTIFICACION

Los microorganismos y sus productos son considerados el factor etiológico primario de la necrosis pulpar, las lesiones periapicales y el fracaso de los tratamientos endodónticos, esto hace que sea de vital importancia su eliminación, la cual no siempre es posible en la práctica clínica debido a las complicaciones anatómicas de los conductos que impiden el acceso de los instrumentos e irrigantes (Siqueira, Uzeda 1998). Por tal razón, se requiere el uso de medicación intraconducto con actividad antimicrobiana para mejorar el pronóstico, deteniendo el proceso patológico y creando un ambiente favorable para la posterior obturación definitiva del espacio del conducto.

En general hay tres tipos de vehículos: acuosos, viscosos u oleosos, los cuales determinan la disociación iónica haciendo que la pasta sea solubilizada y reabsorbida por los tejidos periapicales desde el conducto radicular (Fava L.R., Saunders W.P., 1999). También se ha reportado la relación directa del vehículo con la concentración y la velocidad de liberación iónica, así como la acción antibacterial cuando la pasta es llevada al área contaminada (Marques J.L., Conti R., Antionazzi J.H., Gutz Y., 1994)

La persistencia de los microorganismos en el sistema de conductos como es el caso de los estreptococos, enterococos, peptoestreptococo y lactobacilos mantiene el proceso infeccioso, por esta razón el uso de vehículo asociado al

hidróxido de calcio con mayor efecto antimicrobial, mejora el pronóstico de estos dientes.

1.3 PROPOSITO

Evaluar la actividad antibacterial del hidróxido de calcio asociado a seis vehículos: Suero Fisiológico, Solución salina, Glicerina, Solución anestésica con epinefrina, Solución anestésica sin epinefrina y Clorhexidina, sobre el *Enterococos Faecalis* microorganismo presente en patologías pulpares y periapicales; con el fin de tener mejor desempeño en el uso clínico y proporcionar bibliografía para estudios futuros.

1.4 MARCO TEORICO

El hidróxido de calcio es un polvo blanco, inoloro, con la fórmula $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y un peso molecular de 74.08. Tiene baja solubilidad en agua (cerca de 1.2 g/litro de agua a 25°C), tiene un pH alto (12.5-12.8) y es insoluble en alcohol. Su baja solubilidad es una buena característica clínica porque en tiempos prolongados es necesario que no sea soluble en los fluidos tisulares cuando esta en contacto directo con tejidos vitales. Es una base fuerte obtenida a partir de la combustión del carbonato de calcio hasta su formación en óxido de calcio, el cual al ser hidratado se transforma en hidróxido de calcio. (Fava L.R., Saunders W.P., 1999)

Desde la introducción a la odontología del hidróxido de calcio por Hermann (1920-1930) este medicamento ha sido indicado para promover la cicatrización en muchas situaciones clínicas. Sin embargo, la referencia inicial de su uso se atribuye a Nygren (1838) para el tratamiento de fístulas dentales. Codman (1851) fue el primero en utilizarlo para intentar preservar la pulpa dental implicada. Por sus propiedades antisépticas y su alto ph (Stanley, H.R., 2002)

Los efectos terapéuticos del Hidróxido de Calcio se deben a sus propiedades fisicoquímicas, las cuales se deben a la disociación de los iones Ca^{2+} y OH^- su efecto es autolimitante por la gran reactividad de los iones con los sistemas buffer de la dentina, que no permite que estos subsistan en el medio por mucho tiempo, como para lograr cambios significativos de ph. A pesar de esto, se ha reportado que el ph de la dentina circumpulpar se eleva a 9-10 luego de la colocación intraconducto del $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Sin embargo, los valores de ph en las regiones más distantes de la dentina casi no se alteran, manteniéndose generalmente por debajo de 9 (Nerwich, A., Figdor, D., Messer, H., 1993; Siqueira, J., Lopes, H. 1999) Cuando los iones Ca^{2+} entran en contacto con dióxido de carbono (CO_2) o iones carbonatados (CO_3) en tejido, se forma carbonato de calcio el cual, altera el proceso de mineralización por sobre-consumo de Ca^{2+} (Maisto O.A., Capurro M.A. 1964) Además, el carbonato de calcio no tiene ninguna propiedad biológica ni antimicrobial.

La capacidad antimicrobiana del Hidróxido de Calcio esta relacionada con su alto pH, la relación entre su alcalinidad y el poder antimicrobiano se ha comprobado ampliamente en la literatura. (17) Se ha reportado que a estos valores de pH, algunas bacterias pueden sobrevivir y continuar su crecimiento, como algunas cadenas de enterococos (18). La tolerancia bacteriana a los cambios de pH se produce como consecuencia de la activación de bombas de protones, procesos enzimáticos o sistemas buffer, que ayudan a mantener el pH interno constante. Además, algunos productos generados durante el crecimiento bacteriano, pueden ayudar a la bacteria a neutralizar el pH del ambiente. (Siqueira, J., Lopes, H.1990)

Los efectos letales sobre los microorganismos (y las células) ocurren por mecanismos como el daño a la membrana citoplasmática: donde 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; la desnaturalización proteica: porque 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 al DNA: Los iones hidroxilo reaccionan con el DNA celular

induciendo la separación de las cadenas, inhibiendo la replicación celular y la pérdida de genes. Aunque científicamente, los 3 mecanismos pueden ocurrir, es difícil establecer cual de ellos es el principal mecanismo de acción involucrado en la muerte celular y bacteriana (15).

El hidróxido de calcio es el material más utilizado en el tratamiento de las pulpas expuestas, por su capacidad de inducir la formación de puentes dentinarios. (19).

Por esa misma razón, se ha propuesto su aplicación para inducir el cierre apical en dientes inmaduros y en la reparación de perforaciones en furca o de raíz.

(20,21). De igual forma, se cree que la liberación de iones calcio y el ambiente alcalino pueden favorecer la formación de complejos de fosfato de calcio $[Ca(PO_4)_4]$, que pueden servir como nidos para un futuro proceso de calcificación.

(22). Además, se ha sugerido que la presencia de iones calcio producen un incremento en la síntesis de ADN favoreciendo la proliferación celular.

Así mismo, permiten la activación del ATP, que es sumamente importante en los procesos de mineralización de los tejidos duros como la dentina o el hueso. (23)

La dentina radicular es permeable a los iones calcio, el porcentaje de difusión varía de espécimen a espécimen cuando esta presente o no la capa de barro dentinal, por tal motivo, es necesario eliminarlo, para que permita el paso de este ion. El diámetro de los túbulos dentinales en las zonas cervical y media es más amplio que el de la zona apical. Además que en la región cervical y media se

encuentran una mayor cantidad de túbulos, estos factores permiten una difusión más rápida en estas dos zonas.(24) Sin embargo, si se toma en cuenta que el grosor de la dentina es de aproximadamente de 1.5 a 3.5 mm, se confirma la ineffectividad del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a nivel de las lagunas de reabsorción en la superficie radicular, incluso luego de la utilización de quelantes durante la instrumentación del conducto radicular. (25,26)

Hay ciertos procedimientos adicionales como el uso de lima ultrasónica e irrigación con ácido cítrico al 10% como terapia final de la limpieza del conducto radicular, que permiten que los túbulos dentinales queden expuestos y por lo tanto aumente la cantidad de liberación de iones de calcio. (27,28)

Por otro lado, la alta tensión superficial del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ no le permite entrar en los túbulos dentinales. Esto ha hecho, que se intente mezclar el hidróxido de calcio con un gran número de vehículos, para modificar su tensión superficial, y prolongar la liberación iónica. (29,30)

En general hay tres tipos de vehículos: acuosos, viscoso, u oleosos:

Los vehículos acuosos están constituidos por substancias solubles en agua, como agua, solución salina y anestésicos. En este caso, luego de la disociación iónica, los iones OH^- se inactivan rápidamente al unirse a átomos de hidrógeno (H) del vehículo utilizado, que a pesar de estar saturados mantienen una ligera carga positiva, pudiendo formar enlaces dipolo-dipolo con los iones OH^- que mantienen

carga negativa. De igual los iones OH^- reaccionan con los sistemas buffer de la dentina, reduciendo el tiempo de efectividad del hidróxido de calcio. (31,32)

Algunos de los vehículos viscosos también son solubles en agua, pero su alto peso molecular permite que luego de la disociación iónica, la inactivación de los iones Ca^{++} y OH^- ocurra más lentamente, al reducirles su capacidad de difusión. Dentro de este grupo se encuentran la glicerina, el propilenglicol y el polietilenglicol. Estas sustancias se caracterizan por tener en sus estructuras químicas grupos OH con ligera carga negativa, los cuales pueden reaccionar con el ión Ca^{++} a través de enlaces ión-dipolo, así como átomos de hidrógeno que pueden reaccionar con los iones OH^- del hidróxido de calcio. (30, 31, 33,34)

Los vehículos aceitosos son sustancias no solubles en agua que tienen muy baja solubilidad y capacidad de difusión en los tejidos, en las que la disociación iónica no ocurre, por lo que el efecto del hidróxido de calcio será nulo. Por ello, utilizar un aceite como vehículo es un error. Químicamente es imposible medir el pH de un aceite, puesto que no permiten la disociación de iones H^+ y OH^- , confirmando la incompatibilidad del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ con los aceites. (11, 15, 30,35)

Se ha reportado que la solución anestésica es el vehículo más favorable para reducir la tensión superficial del $\text{Ca}(\text{OH})_2$. (31) Al contrario, cuando el efecto que se busca es prolongar el tiempo de liberación iónica, se ha demostrado que el mejor vehículo es el propilenglicol. (35)

Se ha comparado la eficacia en la colocación del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ mezclado con agua o con glicerina, en dientes con conductos curvos. Los resultados mostraron que ninguna de las mezclas realizadas con agua lograron alcanzar el tercio apical, en tanto que sólo el 50% de las mezclas realizadas con glicerina lograron llegar al tercio apical, demostrando así las dificultades que conlleva su aplicación correcta dentro del conducto radicular. (32)

A pesar del vehículo usado, el HC parece actuar como una efectiva barrera física. Los medicamentos que actúan como una barrera física pueden aniquilar microorganismos remanentes por suspensión de los substratos para crecimiento y por limitación del espacio para la multiplicación. Esto ciertamente puede ser una de las posibles acciones antimicrobiales del HC. Las principales acciones del HC vienen de la disociación iónica de iones Ca y OH , y la acción de esos iones sobre el tejido vital y las bacterias genera la inducción de depósito de tejido duro y el efecto antimicrobial. Cuando el polvo del hidróxido de calcio se mezcla con un vehículo adecuado, una pasta alcalina se forma y debe tener las siguientes características (39):

1. compuesta principalmente de HC el cual puede ser usado en asociación con otras sustancias para mejorar algunas propiedades fisicoquímicas tales como radiopacidad, fluidez y consistencia.
2. no firme

3. puede volverse soluble o reabsorberse dentro del tejido vital lenta o rápidamente dependiendo del vehículo y otros componentes.
4. puede ser preparado para usar en el consultorio o estar disponible como una pasta.
5. dentro del canal radicular son usados como un revestimiento temporal y no como un material de obturación definitiva.

Leonardo y col (1982) recomendaron la adición de otras sustancias a la pasta (40):

1. para mantener la consistencia de la pasta del material el cual no se endurece.
2. para mejorar fluidez.
3. para mantener el pH alto del HC.
4. para mejorar radiopacidad
5. para hacer uso clínico más fácil
6. para no alterar las excelentes propiedades biológicas del HC por sí mismo

BACTERIAS

Muchos de los endodontopatógenos son incapaces de sobrevivir en el medio altamente alcalino suministrado por el HC. (33) Ya que el pH del HC es alrededor de 12.5, varias especies bacteriales comúnmente encontradas en canales radiculares infectados son eliminados después de un período corto cuando están en contacto directo con esa sustancia. (34)

La actividad antimicrobial del HC está relacionada con la liberación de iones hidroxilo en un medio acuoso. Los iones hidroxilo son radicales libres altamente oxidantes que muestran extrema reactividad, reaccionando con varias biomoléculas. (35) Esa reactividad es alta e indiscriminada, así ese radical libre rara vez se difunde lejos de los sitios de generación. Sus efectos letales sobre las células de la bacteria son probablemente debidos a los siguientes mecanismos:

1) Daño de la membrana citoplasmática bacterial; Los iones hidroxilo inducen peroxidación lipídica, resultando en la destrucción de fosfolípidos, componentes estructurales de la membrana celular (36). 2) Desnaturalización de proteínas; La alcalinización del hidróxido de calcio induce el rompimiento de los enlaces iónicos de la estructura de las proteínas. (37) Daño del DNA; los iones hidroxilo reaccionan con el DNA de los microorganismos y por lo tanto su replicación es inhibida y la actividad celular es alterada. Además pueden también inducir mutaciones letales. (38)

Varios estudios han demostrado que el HC ejerce efectos letales sobre las células bacteriales. (34) Esos efectos fueron observados solo cuando la sustancia estuvo en contacto directo con la bacteria en solución. En tales condiciones, la concentración de iones hidroxilo es muy alta, alcanzando niveles incompatibles para la supervivencia de los microorganismos.

En ciertas condiciones, tales niveles de pH en dentina pueden permitir la supervivencia o crecimiento de algunas especies bacteriales. La bacteria varía en

su rango de tolerancia al pH y muchas crecen bien dentro de un rango de pH de 6 a 9. Algunas especies de *Escherichia Coli*, *Proteus Vulgaris*, *Enterobacterio aerogenes* y *Pseudomonas aeruginosa* pueden sobrevivir en pH de 8 o 9. Esas especies bacteriales han sido ocasionalmente aisladas de canales radiculares infectados, usualmente causando infecciones secundarias.

Ciertas bacterias, tales como enterococos, toleran valores muy altos de pH, variando de 9 a 11. Hongos generalmente también muestran un amplio rango de pH; creciendo dentro de un rango de 5 a 9 de pH. Especies de *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porfiromonas gingivales* pueden mostrar crecimiento estable en valores de pH alcalinos (aprox 8- 8.3). El pH del medio ejerce una drástica presión selectiva, y solo esos microorganismos con mecanismos de adaptación son capaces de proliferar. Muchas proteínas y otras moléculas de importancia biológica tienen un estrecho rango de pH para óptima actividad y/o estabilidad, el cual gira alrededor de la neutralidad. La tolerancia bacterial a los cambios de pH puede ser por la activación de bombas de protones específicas, sistemas enzimáticos específicos y/o recursos buffer, los cuales ayudan a la bacteria a neutralizar el pH del medio. (35-36)

Las bacterias pueden sobrevivir después de la medicación intracanal por varias razones. Primero las especies bacteriales presentes en el canal radicular infectado pueden ser intrínsecamente resistentes al medicamento. Segundo, las células bacteriales pueden estar encerradas dentro de variaciones anatómicas

inaccesibles por el medicamento. Tercero, el medicamento puede ser neutralizado por componentes del tejido y por las células bacteriales o productos, perdiendo esos efectos antibacteriales. Cuarto, los medicamentos pueden permanecer en el canal radicular por tiempo insuficiente para llegar y aniquilar las bacterias. Finalmente, la bacteria puede alterar su patrón de expresión genética después cambiar las condiciones del medio. (37)

Además de la eliminación de las bacterias viables remanentes inafectadas por la preparación químico mecánica del canal radicular, los medicamentos intracanales han sido defendidos por otras razones. Ellos deben actuar también como una barrera físico-química, impidiendo la proliferación de microorganismos residuales y previniendo la reinfección del canal radicular por bacterias de la cavidad oral.

Los medicamentos intracanales pueden prevenir la penetración de bacterias de la saliva en el canal radicular básicamente por 2 vías: Primero, los medicamentos que poseen propiedades antibacteriales pueden actuar como una barrera química contra la filtración por bacterias aniquiladas, por lo tanto previenen el ingreso dentro del canal radicular. El canal radicular puede llegar a recontaminarse cuando el número de bacterias excede la actividad antimicrobial del medicamento. Además, la saliva diluye el medicamento y puede neutralizar esos efectos, permitiendo la invasión de microorganismos. Segundo, medicamentos que obturan la longitud total del canal actúan como una barrera física contra la penetración de bacterias. La recontaminación del canal ocurriría solo por: solubilización del

medicamento por la saliva, permeabilidad del medicamento a la saliva, precolación de la saliva en la interfase del medicamento y las paredes del canal radicular. Sin embargo en todos los mecanismos, si el medicamento tiene efectos antibacteriales, la neutralización puede ocurrir antes de la invasión bacterial. (38)

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad antibacterial de seis vehículos asociados al hidróxido de calcio sobre el Enterococos Faecalis.

1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar la actividad antibacterial de seis vehículos asociados al hidróxido de calcio sobre el Enterococos Faecalis a las 24 horas de:

- Agua Destilada
- Solución salina.
- Glicerina.
- Solución anestésica con epinefrina.
- Solución anestésica sin epinefrina
- Clorhexidina

2. ASPECTOS METODOLOGICOS

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Experimental in Vitro fase I

2.2 OBJETO DE ESTUDIO

Actividad antibacterial

2.3 POBLACION DE ESTUDIO

- Agua Destilada
- Solución salina.
- Glicerina.
- Solución anestésica con epinefrina.
- Solución anestésica sin epinefrina
- Clorhexidina
- Hidroxido de calcio

2.4 GRUPOS EXPERIMENTALES

GRUPO 1: Ca OH + Anestesia sin vaso

GRUPO 2: Ca OH + Anestesia con vaso

GRUPO 3: Ca OH + Glicerina

GRUPO 4: Ca OH + Agua destilada

GRUPO 5: Ca OH + Suero fisiológico

GRUPO 6: Ca OH + Clorhexidina

2.5 VARIABLES

Variable	Definición	Operacionalización	Categorización	Escala de medición	Relación de variable	Instrumento
Vehículos	Biomaterial que determina la velocidad de disociación del Ión calcio, a través de los tubulos dentinales.	▪ Agua destilada ▪ Solución salina ▪ Solución anestésica con epinefrina ▪ Solución anestésica sin epinefrina ▪ Clorhexidina ▪ Glicerina	Cualitativa	Nominal	Independiente	Visual

2.5 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Grupo	1	2	3	4	5	6
Categ						
Ausente						
Leve						
Moderado						
Marcado						

GRUPO 1: Ca OH + Anestesia sin vaso

GRUPO 2: Ca OH + Anestesia con vaso

GRUPO 3: Ca OH + Glicerina

GRUPO 4: Ca OH + Agua destilada

GRUPO 5: Ca OH + Suero fisiológico

GRUPO 6: Ca OH + Clorhexidina

2.6 PROCEDIMIENTO

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 Muller Hilton, 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 número de bacterias sembrado en cada medio fuera el mismo, después con asas calibradas se hizo la siembra del microorganismo liofilizado *Enterococcus 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.

3. RESULTADOS

A las 24 horas se observó 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.

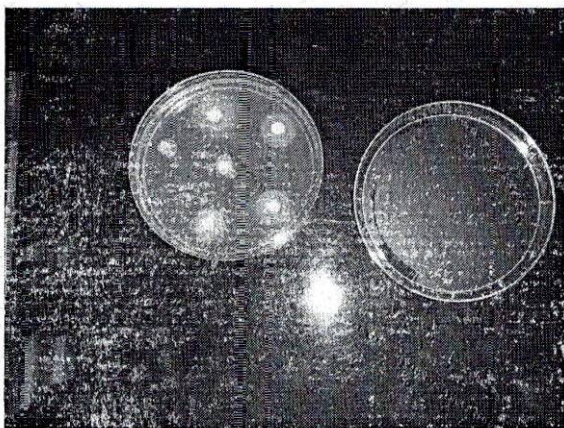
Grupo 2: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + Anestesia con epinefrina.

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.



4. 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 Lopés 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) daño a la membrana citoplasmática, (b) desnaturación de las proteínas, (c) daño 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.

5. 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.

BIBLIOGRAFIA

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 JJ, 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 Voi. 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.,** Avaliaçao. Da Velocidade De Dissociação Iônica Do hidróxido De Calcio Associado A Diferentes Veículos. 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;23:102-4.
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.