

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIDAD DE POSGRADO

**“EFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS PASTAS 3
MIX-MP Y CALEN PMCC® EN UN BIOFILM DE
TRES BACTERIAS PREDOMINANTES EN
PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA.”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Estomatología

AUTOR

Doris Elizabeth Salcedo Moncada

Lima – Perú

2015

TÍTULO DE LA TESIS

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS PASTAS 3 MIX-MP Y
CALEN PMCC® EN UN BIOFILM DE TRES BACTERIAS
PREDOMINANTES EN PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA**

A Evita, Roberto y Elisme Donaldo
IN MEMORIAN

Para Roberto, Mirian, Carlos, José y Angie, quienes a pesar de los grandes problemas de la vida, con paciencia y mucho amor lograron impulsarme para terminar mi doctorado en Estomatología

AGRADECIMIENTOS

A mi Asesor Dr. Raúl Tafur Portilla quien siempre me apoyó y supo guiarme con sus amplios conocimientos de investigación en la elaboración de la presente Tesis.

Al laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, representada por la Mg. Hilda Moromi Nakata quien con su invaluable conocimiento apoyó en el desarrollo y ejecución de la presente Tesis y en ella mi agradecimiento al personal que labora en el laboratorio.

Al Dr. Hugo Caballero Cornejo por su apoyo en la redacción y elaboración de la investigación y sobre todo por su amistad.

A la Dra. Antonia Castro Rodríguez y al Dr. Gerardo Ayala de la Vega porque su apoyo en los momentos más difíciles, fue decisivo para concluir mi tesis Doctoral.

A todas las personas que colaboraron en la elaboración de la presente tesis Doctoral

ÍNDICE

	Pag.
Portada	i
Título	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	iv
Índice	v
Índice de Figuras	vii
Índice de Gráficos	ix
Resumen	x
Abstract	xi

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 Situación Problema	01
1.2 Formulación del problema	04
1.3 Justificación teórica de la investigación	04
1.4 Justificación práctica de la investigación	04
1.5 Objetivos de la Investigación	05

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Marco Filosófico Epistemológico de la Investigación	06
2.2 Antecedentes de la Investigación	07
2.3 Bases Teóricas	17
2.3.1 Patología Endodóntica	17
2.3.2 Periodontitis Apical	19

2.3.3 Biofilm Endodóntico	27
2.3.4 Formación y Evolución del Biofilm	31
2.3.5 Composición Bacteriana del Biofilm	34
2.3.6 Medicamentos Intraconductos	36
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	
3.1 Tipo y Diseño de investigación	50
3.2 Unidad de Análisis	50
3.3 Población de Estudios	50
3.4 Tamaño de Muestra	50
3.5 Técnicas de Recolección de Datos	51
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Presentación de Resultados	63
4.2 Análisis, Interpretación y Discusión de los resultados	76
4.3 Pruebas de Hipótesis	78
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1 Conclusiones	81
5.2 Recomendaciones	82
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
N° 01	Porphyromona Gingivalis	52
N° 02	Peptostreptococcus Anaerobius	52
N° 03	Enterococcus Faecalis	53
N° 04	Preparación de muestras	54
N° 05	Radiografía de control	54
N° 06	Caldo de cultivo	55
N° 07	Contaminación de las muestras	56
N° 08	Incubación en anaerobiosis	56
N° 09	Raspado de biofilm	57
N° 10	Sembrado en agar	57
N° 11	Pasta 3 Mix-MP	58
N° 12	Pasta Calen PMCC®	58
N° 13	Jarra de anaerobiosis	59
N° 14	Obtención de muestras para siembra	60
N° 15	Prueba de API 20E	62
N° 16	Halos de inhição de 3Mix-MP y Calen PMCC®, control positivo y negativo	66
N° 17	Lectura de cultivo de 3Mix-MP	74
N° 18	Lectura de Cultivo de Calen PMCC®	75

N° 19	Activación de las cepas Porfiromona Gingivalis, Enterococo Faecalis y Peptostreptococcus Anaerobios	93
N° 20	Procedimiento de preparación y contaminación de las muestras	94
N° 21	Colocación de pastas en agar y medición de halos de inhibición	95
N° 22	Recuperación de la muestra y sembrado en placas	96

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico		Pág.
N° 01	Halos de inhibición	64
N° 02	Halos de inhibición de 3 Mix-MP versus control positivo	67
N° 03	Halos de inhibición de Calen PMCC® y el control positivo	68
N° 04	Halos de inhibición de 2pastas: 3Mix-MP versus Calen PMCC®	69
N° 05	3Mix-MP y Grupo Control	71
N° 06	3Mix-MP y Calen PMCC®	73

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar "in vitro" la actividad antibacteriana de dos pastas: 3 Mix-MP y Calen PMCC® como medicación intraconducto en un biofilm formado por 3 cepas: *Porphyromona Gingivalis*, *Enterococcus Faecalis* y *Peptostreptococcus Anaerobius*, presentes en Periodontis apical crónica; se utilizaron 32 piezas dentarias (premolares) a las cuales se les aplicó el mismo protocolo: fueron instrumentadas con sistema Mtwo hasta la lima 40.04, luego 22 piezas fueron seccionadas mesiodistalmente y 10 no seccionadas, fueron esterilizadas y contaminadas manteniéndolas en caldo BHI vitaminado por un lapso de 7 días.

El proceso se dividió en 2 fases: en la primera fase se usaron 12 piezas seccionadas; a las que se les hizo el raspado en toda la superficie sembrándose en Agar Shaedler por 7 días; luego se realizaron 4 pozos de 5mm de diámetro por cada placa donde se colocaron las pastas de 3Mix-MP, Calen PMCC®, Hidróxido de calcio con suero fisiológico (control positivo) y glicerina (control negativo) dichas placas se incubaron por 7 días en anaerobiosis y se procedió a la lectura de los halo de inhibición bacteriana.

En la segunda fase siguiendo el protocolo anterior se usaron las 20 piezas restantes (10 seccionadas y 10 no seccionadas a las que se les colocó la pasta 3Mix-MP, la pasta Calen PMCC®, hidróxido de calcio con suero fisiológico (control positivo), se realizó el raspado y sembrado en agar shaedler manteniéndolo en anaerobiosis por 7 días para finalmente realizar la lectura de las unidades formadoras de colonias (ufc) presentes.

El resultado observado con respecto a los halos de inhibición mostró que fue mayor para la pasta 3Mix - MP (40mm.) en comparación con la pasta Calen PMCC® (7mm.), con respecto a la lectura no se pudo recuperar colonias en las muestras de 3Mix-MP a diferencia de Calen PMCC® que se obtuvo 04 ufc. ; concluyéndose que la pasta 3Mix-MP tiene mayor efecto antibacteriano como medicación intraconducto frente a la pasta Calen PMCC®.

Palabras claves: Biofilm endodóntico, medicación intraconducto, pasta 3Mix-MP, Calen PMCC®, halos de inhibición

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the " *in vitro*" antibacterial activity of two pastes: 3Mix-MP and Calen PMCC[®], as intracanal medication in a biofilm model composed by three bacterial strains: Porphyromonas gingivalis, Enterococcus faecalis, and Peptostreptococcus anaerobius, present in chronic apical periodontitis. Thirty-two premolars were used in this study according to the following protocol: The teeth were instrumented with the Mtwo system up to file #40.04, then 22 teeth were sectioned mesiodistally, and 10 non-sectioned teeth were sterilized and later contaminated by storing in BHI broth reinforced with vitamins for 7 days.

The whole process was divided into two stages: In the first one, 12 sectioned teeth underwent scrapping in their entire surface and then sowing them in Shaedler Agar for 7 days. At the end of this period, 3Mix-MP paste, Calen PMCC[®], Calcium hydroxide dissolved with saline solution (positive control), and glycerin (negative control) were placed into four dwells of 5 millimeters diameter newly created on the agar of each plate. The plates were incubated for additional 7 days in anaerobiosis, and proceeded to read the inhibition zone diameter. In the second stage the 20 remaining teeth (10 sectioned and 10 non-sectioned) were used following the protocol described above. The scrapped material was sowed in Shaedler agar, keeping in anaerobiosis for 7 days and proceeded to finally make the reading of Colony forming units (CFU).

The results regarding to the inhibition halos were higher for 3Mix-MP (40 mm.) than Calen PMCC[®] (7 mm.). With respect to the reading of CFU's, no colonies were recovered in the samples covered with 3Mix-MP, whereas 4 UFC's were recovered in the Calen PMCC[®] group. In conclusion, 3Mix-MP paste has greater antibacterial effect as intracanal medication than Calen PMCC paste.

Keywords: Biofilm endodontic, intracanal medication, paste 3Mix-MP, Calen PMCC[®], inhibition halos

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 Situación Problemática

La especialidad de endodoncia trata las enfermedades del complejo dentino pulpar así como su relación con los tejidos periodontales circundantes, siendo el objetivo principal de cualquier tratamiento endodóntico prevenir y curar cualquier lesión periapical como la periodontitis apical crónica para lo cual es imprescindible durante la limpieza y conformación de los conductos la eliminación de todos los microorganismos que son los factores etiológicos de todas las lesiones pulpares y periapicales.

En la mayoría de los casos, la persistencia de estas lesiones después de un tratamiento de conductos es atribuida a la permanencia de infección intrarradicular, cuando los procedimientos del tratamiento no cumplen con los estándares satisfactorios para el control y eliminación de esta microbiota, o la recontaminación del sistema de conductos radiculares por vía coronaria.

Durante las primeras fases de la infección pulpar la microbiota de los anaerobios facultativos predominan en la microflora y consumen la mayor parte de oxígeno disponible con lo que baja progresivamente la presión parcial del oxígeno y favorece el crecimiento de los anaerobios obligados, el conducto radicular necrótico e infectado es un medio especial para el crecimiento de organismos que crecen en su mayoría sésiles, también como agregados y

coagregados o células suspendidas en la fase fluida del conducto constituyendo el Biofilm

El Biofilm es una comunidad de organismos de una o varias especies embebidas en una matriz extracelular de polisacáridos unidos a una superficie sólida. Existen microorganismos que viven en el Biofilm y son 1000 veces más resistentes a los agentes antimicrobianos, también se le considera una masa gelatinosa, constituida principalmente por polisacáridos y proteínas, en la cual los microorganismos, sus productos y subproductos, están adheridos. Esa masa polisacárida asemeja una armadura, en la cual los microorganismos están protegidos y no es atacado por las soluciones irrigadoras utilizadas, pero se ha comprobado que sí es atacado por una medicación Intraconductos.

Es conocido que la microbiota relacionada con dientes tratados endodónticamente con periodontitis apical crónica no ha sido tan ampliamente estudiada como la involucrada en pulpas necróticas, sin embargo se ha logrado establecer que existen diferencias significativas en su composición y la localización de los microorganismos alojados en profundidad de los túbulos dentinarios, ramificaciones del conducto principal. Y en erosiones cementarias apicales son los coadyuvantes de lesiones persistentes pos tratamiento, por lo que se debe usar medicación que llegue a áreas inaccesibles a la preparación biomecánica y a las defensas del organismo.

Según Walton, R y Torabeniadjad, M en 1989 mencionan sobre la eliminación de microorganismos para esterilizar (destruir todos los microorganismos viables) o desinfectar (destruir todos los patógenos) en el espacio del conducto, en los últimos años diversas escuelas están preconizando una medicación temporal en el interior de los conductos radiculares de dientes con periodontitis apical, preferentemente con pastas de hidróxido de calcio; es así que durante muchos años se usa medicación intraconducto, la cual es indicada en el tratamiento de dientes infectados como en las periodontitis apicales crónicas en las que se producen resorciones del ápice, formándose cráteres que anidan bacterias que pueden permanecer inaccesibles al tratamiento.

Las bacterias más prevalentes, presentes en los conductos radiculares, no son siempre las mismas. En los dientes infectados sin tratar, las bacterias más frecuentes son las anaerobias estrictas. En cambio en los dientes en lo que ha fracasado el tratamiento de conductos, las bacterias más prevalentes son las anaerobias facultativas.

Los nuevos conceptos de resistencia bacteriana en endodoncia están mostrando el importante papel del *Enterococcus faecalis*. Cuando fue analizada la microbiota de canales radiculares con infecciones persistentes, los *Enterococcus faecalis* fueron encontrados con mayor frecuencia.

En el año 1993 Hoshino realizó una investigación inicialmente con una pasta de 3 antibióticos : Minociclina, metronidazol y ciprofloxacina que se mezclaba con 2 líquidos propilenglicol y Macrogol (polietilenglicol), esclarecieron la actividad antibacteriana de una mezcla de drogas en bacterias de lesiones cariosas y endodónticas de dientes deciduos humanos in vitro; posteriormente las drogas antibacterianas usadas en este estudio fue una mixtura de Metronidazol, Ciprofloxacina y un tercer antibiótico: Amoxicilina, y luego se midió la penetración y el efecto bactericida según periodos de observación.

Ante este hallazgo se planteó en la presente investigación utilizar las propiedades de la mezcla de 03 antibióticos: Mynociclina, Metronidazol y Ciprofloxacina teniendo como vehículos el propilenglicol y poltilenglicol (3Mix-MP) y se comparó con un medicamento muy usado como es el hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado (pasta Calen PMCC® de SSWhite), en piezas con un Biofilm de tres bacterias mas prevalentes de la periodontitis apical crónica y así poder evaluar su actividad antibacteriana.

1.2 Formulación del Problema

¿Cual es el efecto antibacteriano de la pasta 3 Mix-MP y la pasta Calen PMCC® en un biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica?

1.3 Justificación teórica de la investigación

En nuestro medio es muy frecuente los fracasos endodónticos con manifestaciones de dolor y presencia de fístulas lo que indica que hay presencia de bacterias anaerobias estrictas resistentes como el enterococcus faecalis, la porfiromonas y prevotella las cuales siguen permaneciendo en el conducto después de obturadas y puede deberse a una deficiente preparación e irrigación o un mal diagnóstico, motivo por el cual siempre son derivadas a un tratamiento de segunda intención no quirúrgico (Retratamiento) los cuales son complicados porque requieren un manejo distinto del normal, como por ejemplo la aplicación generalmente de una medicación intraconductos que casi siempre es hidróxido de calcio, paramonoclofenol alcanforado o una asociación entre ambas con resultados muy lentos de observar y con recambios continuos, en vista de este problema, se plantea utilizar una combinación de antibióticos como la minociclina, metronidazol y ciprofloxacina unidos por dos líquidos que son el propilenglicol y polietilenglicol que permiten colocar una pasta dentro del conducto y no recambiar hasta que desaparezca la lesión esterilizando la zona a obturar posteriormente, es decir el tiempo empleado sería menor y la respuesta más rápida para realizar la obturación definitiva.

1.4 justificación práctica de la investigación

En este estudio se plantea utilizar una medicación intraconducto que es viable de usar en nuestro medio y cuyo aporte en la salud de los pacientes logrará un efecto positivo y disminuirá el tiempo de espera; los investigadores han informado que el control de infecciones adecuado y esterilización del sistema de conductos radiculares y la región periradicular favorecen una buena cicatrización de la lesión periradicular. Así poder conocer la efectividad de las

pastas usadas como medicamento intraconducto y aplicarlo, para poder eliminar en mayor porcentaje las bacterias de los conductos se logrará una mayor seguridad de parte del operador y a su vez podrá realizarse una rehabilitación de la pieza dentaria afectada en tiempo más corto.

1.5 Objetivos de la investigación

1.5.1 Objetivo General

Determinar el efecto antibacteriano de la pasta 3 Mix-MP y la pasta Calen PMCC® en un biofilm de tres bacterias predominantes en Periodontitis apical crónica.

1.5.2 Objetivos específicos

1. Establecer el efecto antibacteriano de la pasta 3 Mix-MP en un biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica.
2. Determinar el efecto antibacteriano de la pasta Calen PMCC® en un biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica.
3. Comparar el efecto antibacteriano de la pasta 3 Mix-MP y la pasta Calen PMCC® en un biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica.

CAPÍTULO II : MARCO TEÓRICO

2.1 Marco Filosófico Epistemológico de la Investigación

En esta investigación se planteó la necesidad de resolver un problema de salud que aqueja a nuestra población y que evitará la pérdida de piezas dentarias, que a su vez afecta su salud en general, por cuanto no podrá cumplir sus funciones básicas como masticar los alimentos que ingiera, lo que constituye un proceso funcional que contribuye al desarrollo de un bolo alimenticio el cual debe estar bien realizado para que el organismo pueda absorber las nutrientes de nuestra alimentación y lograr su estado sano. Al constituir la caries dental una enfermedad del siglo XXI cuya repercusión afecta al 99% de nuestra población y cuya progresión genera la muerte pulpar y lesiones pulpares que terminan en periodontitis apical crónica, que si no se trata correctamente se convierte en persistente y conlleva posteriormente a pérdida dentaria, es bajo ese contexto que se trató de determinar qué medicamento puede ser más efectivo para eliminar la contaminación bacteriana del conducto radicular y así lograr la salud periodontal y por consecuencia la mejora de salud del paciente.

2.2 Antecedentes de Investigación

Sato T, Hoshino E., Uematsu H. y Cols. (1993)¹. En Japón, realizaron un estudio para establecer y aclarar la eficacia de una mezcla de drogas compuesta por Ciprofloxacina, Metronidazol más un tercer antibiótico: Amoxicilina, Cefaclor, Cefroxadine, Fosfomicin o Rokitamycin en bacterias de lesiones cariosas y endodónticas de dientes deciduos humanos extraídos, in vitro. Para evaluar la eficacia cultivaron muestras de dentina cariada (17 casos) y de tejidos pulpaes infectados (14 casos) en placas control y placas conteniendo la mezcla de drogas y observaron que ninguna bacteria fue recuperada en presencia de ésta. Asimismo, cubrieron las superficies de las lesiones de los dientes recién extraídos con cemento de fosfato alfatricálcico conteniendo una mezcla de Ciprofloxacino, Metronidazol y Cefaclor (1% cada uno, en 5 casos) y observaron que tampoco se recuperó ninguna bacteria de las lesiones, y por último sumergieron las muestras en una solución de la mezcla (200ug cada una/ ml.) sin poder recuperar ninguna bacteria; concluyendo que las lesiones cariosas y endodónticas pueden ser esterilizadas por la mezcla de drogas in situ.

Wen – Shiun Tchaou, DDS (1995)². En Estados Unidos. Comparó la efectividad antibacteriana de diez materiales de obturación usados en pulpectomías: Ca(OH)₂ + Paramonoclorofenol Alcanforado, Ca (OH)₂ + Agua destilada, Óxido de Zinc + Paramonoclorofenol Alcanforado, Óxido de Zinc + Eugenol, Óxido de Zinc – Eugenol + Formocresol, Óxido de Zinc – Eugenol + Agua Destilada, Óxido de Zinc – Eugenol 10 + Dihicloridrato de Clorhexidina, Pasta Kri, Vitapex y Vaselina (control). Éstos materiales fueron comparados contra las bacterias obtenidas de 13 dientes temporales a través de un ensayo de difusión en Agar. Los resultados sugirieron que los materiales podían ser divididos en tres categorías de las cuales la Categoría I fue la que mostró el efecto antibacteriano más fuerte e incluyó al ZnO + CPC, Hidróxido de calcio + CPC y ZOE + Formocresol.

Flores Abuxapqui, J. (1995)³. En México. Realizó un estudio del efecto antibacteriano del hidróxido de calcio en los conductos radiculares con piezas con pulpa infectada, se estudiaron 36 piezas con diagnóstico de gangrena pulpar, se realizaron cultivos para la detección de bacterias aerobias y anaerobias antes y después del tratamiento, observándose un aumento significativo del número de dientes negativos después del tratamiento tanto habrá microorganismos aerobios y anaerobios así como también una disminución significativa en el número de colonias bacterianas tanto aerobias como anaerobias con una notable ausencia de dolo después de la aplicación del medicamento.

Sato J. y Cols. (1996)⁴. En Japón. Observaron el potencial antibacteriano de una mezcla de Ciprofloxacina, Metronidazol y Minociclina en los túbulos dentinarios de la dentina radicular infectada in situ. Los conductos radiculares fueron irrigados previamente con 0.4m de edta antes de la aplicación de la mezcla antibiótica. La penetración y la eficacia bactericida se calcularon a través de periodos de observación y mediante varios procedimientos (recuento de bacterias y medición de zonas de inhibición), de tal manera que al final no se recuperó ninguna bacteria de la dentina radicular, excepto en un caso en el cual se recuperaron unas pocas bacterias comprobando el efecto antibacteriano de la combinación de estas tres drogas en las paredes de conductos infectados.

Hoshino E. y Cols. (1996)⁵. En Japón. Realizaron este estudio a fin de establecer el efecto antibacteriano de una mezcla de Ciprofloxacina, Metronidazol y Minociclina, con la adición de Rifampicina y sin ella, en bacterias tomadas de dentina radicular infectada, así como de dentina cariada y tejido pulpar infectado. La eficacia se estimó in vitro mediante la recuperación de bacterias en placas agar (sangre BHI) en presencia 11 o ausencia de la combinación de drogas antibacterianas (10, 25, 50 y 75 ug/ml).No se recuperaron ninguna de las muestras en presencia de la combinación de drogas (25 ug. / ml.) lo que indica la potencia y eficacia bactericida de las

drogas contra los microorganismos presentes en los conductos radiculares infectados o dentina cariada.

Takushige T., Hoshino E. (2001)⁶. En Japón. Evaluaron la efectividad de la terapia LSTR (Esterilización de Lesiones y Reparación Tisular) en base al uso de la pasta 3 Mix-MP en dientes con perforaciones radiculares crónicas y lesiones perirradiculares. La pasta 3 Mix-MP fue colocada en el fondo de las cavidades para esterilizar el diente y las lesiones adyacentes. Parte de la dentina infectada (blanda) fue dejada intencionalmente ya que esta puede ser re-calcificada luego de la esterilización. Se empleó un cemento a base de ionómero de vidrio para sellar las cavidades y posteriormente éstos fueron restaurados. De 57 casos, (79%) fueron clasificados como clínicamente buenos luego de evaluaciones a corto y largo plazo (32 - 4123 días). Las lesiones perirradiculares se redujeron o desaparecieron conjuntamente con otros síntomas clínicos como dolor a la masticación o percusión. (16%) las lesiones perirradiculares no fueron evidentes radiográficamente en las evaluaciones a largo plazo, (4%) fueron evaluados como exitosos luego de un re-tratamiento bajo los mismos procedimientos. En la mayor parte de los casos las lesiones perirradiculares causadas por perforaciones crónicas mejoraron o desaparecieron radiográficamente por la terapia LSTR (3Mix-MP) y todos los dientes pudieron ser conservados sin presentar síntomas clínicos.

Cruz EV. y Cols. (2002)⁷. En Japón. Evaluaron la penetración del Propylen Glicol dentro de los túbulos dentinarios; para esto se disolvió Safranina O en Propylen Glicol y en agua destilada, introduciéndolos en los conductos radiculares con presencia y sin ella de Smear layer (barro dentinario) artificial. Los resultados de este estudio mostraron que el Propylen Glicol llevó el tinte mediante el sistema de túbulos más rápida y efectivamente y en ausencia de barro dentinario, indicando su uso potencial como vehiculo en medicamentos intraconducto.

Takushige T. y Cols. (2004)⁸. En Japón. Evaluaron el resultado clínico de la terapia LSTR (Esterilización de lesiones y reparación tisular) en tratamientos endodónticos de dientes temporales empleando una mezcla de Metronidazol, Minociclina y Ciprofloxacina en ungüento con Macrogold y Propylen Glicol para la desinfección de conductos radiculares en 56 pacientes. El ungüento se colocó en la entrada de los conductos radiculares y en la base de la cámara pulpar, sin realizar instrumentación previa. En todos los casos los síntomas y signos clínicos como abscesos gingivales, presencia de fístulas, dolor inducido, dolor espontáneo y dolor pulsátil desaparecieron luego del tratamiento.

Windley W. y Cols. (2005)⁹. En Estados Unidos. Estudiaron la capacidad de una pasta antibiótica triple consistente de 3 Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina para la desinfección de dientes inmaduros de perros con periodontitis apical. Se tomaron muestras de los conductos antes (S1) y después (S2) de la irrigación con NaOCl 1,25%, y después de ser revestidos con la pasta antibiótica triple (S3) consistente de Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina. En S1 se obtuvo un 100% de cultivos bacterianos con un promedio de CFU de 1.7×10^8 . En S2 se observó un 10% de cultivos libres de bacterias con un promedio de CFU de 1.4×10^4 . En S3, se obtuvo un 70% de cultivos libres de bacterias con un promedio de CFU de solo 26. Las reducciones en el promedio de unidades formadoras de colonias contadas entre S1 y S2 ($p < 0,0001$) así como entre S2 y S3 ($p < 0,0001$) fueron estadísticamente significativas. Estos resultados indican la efectividad de la pasta antibiótica triple en la desinfección de dientes inmaduros con lesión periapical.

Hoshino E. y Cols. (2005)¹⁰. En Japón. Evaluaron la susceptibilidad del *Enterococcus* a una combinación de drogas antibacterianas: Metronidazol, Ciprofloxacina, Minociclina (3Mix), la cual es usada para la terapia de Esterilización de Lesiones y Reparación Tisular (LSTR). El *Enterococcus faecalis* ha sido reportado como causante de infecciones persistentes en los conductos radiculares, especialmente después de usar Hidróxido de calcio como revestimiento, mostrando frecuentemente tolerancia a ciertas drogas antibacteriales. Las concentraciones inhibitorias mínimas de Ciprofloxacina y

Minociclina en *Enterococcus faecalis* y *E. faecium* fueron 5–20 ug/ml respectivamente y no se observó efecto inhibitorio con el Metronidazol. 3Mix (100ug/ml.) como mezcla, inhibió completamente el crecimiento de cada cadena. Adicionalmente 3Mix también inhibió el crecimiento en *E. faecies* (116 muestras). Los resultados obtenidos indicaron que 3 Mix es suficientemente capaz de inhibir el crecimiento del *Enterococcus* y puede ser útil para el tratamiento endodóntico en casos donde se sospeche de la presencia de esta bacteria.

Hoshino E. y Cols. (2005)¹¹. En Japón. Evaluaron al segundo año del tratamiento endodóntico de un solo paso 3Mix- Mp, usando una combinación de drogas antibacterianas. Metronidazol, Minociclina y Ciprofloxacina (3Mix) y Macrogold y Propylen Glicol (MP) a la cual denominaron “Terapia de esterilización de lesiones y reparación tisular (LSTR)”. Realizaron el tratamiento en las primeras molares de niños en edad escolar como parte de un programa de salud oral realizado en Shichbar, Bangladesh y Alfonso, Filipinas. A pesar de pérdida de las restauraciones presentadas en algunos pacientes, los resultados que obtuvieron fueron evaluados como exitosos mostrando las excelentes propiedades en programas de salud oral rural de la técnica LSTR 3Mix-MP NIET (Non Instrumentation Endodontic Treatment).

Nakahara H., Takushige T., Hoshino E. (2005)¹². En japon. Evaluaron clínicamente el tratamiento endodóntico 3Mix-MP usando una combinación de drogas antibacterianas en 991 piezas permanentes. Se agrandaron los orificios de las entradas de los conductos para crear una cavidad donde alojar la medicación (3Mix-MP) para luego sellar el conducto con cemento de ionómero de vidrio. En la siguiente cita realizaron la preparación del conducto y la obturación con gutapercha y cemento endodóntico. En algunos casos (19,2%) sólo fue dada medicación sin ningún otro procedimiento endodóntico (NIET: Tratamiento endodóntico no instrumentado). Los resultados obtenidos fueron exitosos en la mayoría de los casos (97,8%) debido a la desaparición de los síntomas y signos 15 clínicos como fístulas, formación de abscesos, exudado purulento, inflamación o dolor a la masticación; así como la recuperación

parcial o total de las lesiones periapicales. De 602 casos seguidos durante más de 7 años, 595 (98.8%) fueron evaluados como exitosos. En las piezas tratadas bajo el concepto de NIET, 187 casos (98,4%) fueron considerados también como exitosas. Esto indica que el tratamiento endodóntico 3Mix-MP, incluyendo NIET determina excelentes resultados clínicos.

Jiménez Andrea, Pulido Elizabeth, Herrera, Carolina (2005)¹³. En Colombia. Realizaron una investigación bibliográfica acerca de las bases fisiológicas del hidróxido de calcio como agente antimicrobiano y neoformador de tejido. Este medicamento puede tener un efecto antagónico, ya que por su alto pH es capaz de generar efectos nocivos sobre las bacterias presentes en los conductos radiculares, pero de igual forma causará estos mismos efectos sobre las células encargadas de la posterior reparación del tejido periapical, por tanto, es un riesgo-beneficio a tener en cuenta al considerar su uso. El uso del hidróxido de calcio siempre será un tema de controversia ya que es aplicado en diferentes situaciones clínicas por sus propiedades antimicrobianas y de reparación.

Soledad Rodríguez Benítez (2005)¹⁴. En Argentina. Realizó un estudio bibliográfico sobre la importancia del hidróxido de calcio como medicamento intraconductos en endodoncia, en dientes con lesión periapical donde se hace imprescindible utilizar sustancias antisépticas para eliminar la contaminación bacteriana, siendo la medicación intraconductos un valioso auxiliar en la desinfección del sistema de conductos radiculares sobre todo en lugares inaccesibles a la instrumentación como los conductos laterales, deltas apicales y túbulos dentinarios.

Silva Herzog Flores (2005)¹⁵. En Mexico. Realizó un estudio para analizar por espectrofotometría de absorción atómica y potenciometría el comportamiento del hidróxido de calcio con diferentes vehículos debido a la relación que existe en la disociación lenta y sostenida con su efecto terapéutico en tratamientos de Apicoformación, eliminación de microorganismos del conducto radiculares infectados con lesión periapical, encontrándose que los cuatro vehículos

investigados: propilenglicol, polietilenglicol 1400, glicerol y suero fisiológico a diferentes tiempos 24hs, 7,15,30 días, mostrando mejor comportamiento al combinarse con el hidróxido de calcio; el propilenglicol presentó una liberación mayor de iones de calcio de 580ppm a los 7 días seguido del polietilenglicol, suero fisiológico y glicerol, el pH se mantuvo de 12.07 a 12.78 durante los cuatro periodos.

Ferro P. y Cols. (2005)¹⁶. En Cuba. Basados en los resultados obtenidos en diferentes trabajos experimentales, se propuso realizar la investigación, tomando 30 dientes humanos que al momento de realizar el tratamiento pulpo-radicular mostraban presencia de lesiones periapicales con diámetros variables, por encima de los 5 mm. Se tuvieron en cuenta 2 grupos: en uno de ellos se les realizaron a los conductos radiculares rellenos temporales de pasta de hidróxido de calcio y agua destilada; en el otro grupo a estos conductos se les realizaron rellenos temporales con pasta de hidróxido de calcio, agua destilada y paramonoclorofenol alcanforado. Se evaluó la disminución de las lesiones periapicales en ambos grupos a los 3 y 6 meses de iniciado el tratamiento, sin que se observaran diferencias estadísticamente significativas. Igual ocurrió en la evaluación de la reparación ósea periapical a los 9 meses de iniciado el tratamiento. Con ambas técnicas los resultados fueron satisfactorios, lo que muestra una participación activa del hidróxido de calcio en la reparación de las lesiones periapicales, independientemente de su asociación con el paramonoclorofenol alcanforado

Takushige T. y Cols. (2006)¹⁷. En Japón. Evaluaron clínicamente la terapia LSTR: 3Mix-MP para casos con lesiones periapicales generadas después de haberse realizado tratamientos endodónticos (re-tratamientos). Se colocó la pasta 3Mix-MP en los orificios de la entrada de los conductos radiculares de 101 dientes permanentes sin remover la obturación previa, luego se selló con cemento de ionómero de vidrio y posteriormente fueron reforzados con incrustaciones inlay de metal o resina. No realizaron preparación u obturación alguna en los conductos. Después de tres meses de realizado el tratamiento se evaluaron cambios en la radiolucidez de las lesiones. Todos los síntomas

clínicos mejoraron después del tratamiento, no se observaron casos de fracturas radiculares o algún otro tipo de desorden posteriores al tratamiento. 97 de los casos (96%) fueron clínicamente favorables y en 4 de ellos no hubo cambio en el tamaño de las lesiones, permaneciendo bajo observación, dando como conclusión que el uso de la terapia LSTR 3Mix-MP NIET es eficiente y exitosa en el re-tratamiento de las lesiones radiolúcidas periapicales.

Talero J. (2007)¹⁸. En Colombia. Realizó una revisión bibliográfica del poder bactericida del hidróxido de calcio en la terapia del conducto radicular, se analiza el contexto de conductos infectados y lesiones periapicales, efecto sobre las propiedades biológicas del lipopolisacárido bacteria LPS, de igual forma comentó su acción en la disolución del tejido pulpar, sellador de ápices en dientes con formación incompleta de raíz y como irrigante del conducto radicular.

Halim Nagem Filho (2007)¹⁹. En Brasil. Evaluó la biocompatibilidad del paramonoclorofenol alcanforado en una proporción de 3,5:6,5 (PMCC) y el paramonoclorofenol alcanforado asociado al hidróxido de calcio (PMCC+ Ca(OH)₂) en tejidos subcutáneo de ratas y el potencial antimicrobiano de estos medicamentos frente a algunos microorganismos, los datos obtenidos mostraron que el paramonoclorofenol alcanforado era más irritante que la asociación y en cuanto a su actividad antimicrobiana no hubo diferencias significativas.

Il-Young Jung, y cols. (2008)²⁰. En Corea. Evaluaron 8 pacientes con periodontitis apical y ápice abierto, durante el tratamiento 5 de estas piezas tenían remanente pulpar en conducto y los 4 piezas restantes no presentaron restos pulpares; al primer grupo se hizo la irrigación con hipoclorito de sodio, se agregó la medicación de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina y fueron sellados con mta, el segundo grupo se lavó con hipoclorito y se provocó un sangrado intracanal, se colocó la pasta 3 mix como medicación, en ambos grupos los pacientes mostraron un control de 1 a 5 años con evidencia

satisfactoria de resultados clínicos, pacientes asintomáticos, sin tratos fistulosos y la periodontitis apical fue resuelta sin evidencia radiográfica y con cierre apical normal e incremento en la longitud radicular .

Toyohiko T. y Cols. (2008)²¹. En Japón. Realizaron un estudio clínico retrospectivo de 360 dientes con pulpitis diagnosticados y tratados a nivel local con una combinación de tres medicamentos antibacterianas (ciprofloxacino, metronidazol y minociclina, "3Mix-MP") sin un procedimiento de pulpectomía. Pacientes consecutivos con un diagnóstico clínico de pulpitis había factores pre-operatorio observados (dolor espontáneo, exposición pulpar, la profundidad de la lesión de caries) y fueron tratados con la colocación de 3Mix-MP en el piso pulpar de la lesión de caries en la dentina ablandada se dejó intencionalmente, en este caso. Las lesiones tratadas se sellaron con cemento de ionómero de vidrio y restaurado con incrustaciones de resina. Una buena respuesta clínica fue definir como la falta de cualquier dolor espontáneo, no la alodinia (estimulo que generalmente no provoca dolor) mecánica a morder y la presencia de la capacidad de respuesta pulpar al frío o estímulos eléctricos. Utilizando estos criterios, un buen resultado clínico se encontró en 342 (95%) del total de casos que fue 360. Seis casos progresaron a necrosis de la pulpa y de los casos restantes 12 requieren el re-tratamiento usando la misma 3Mix-MP, lo que resulta un buen resultado posterior.

Takushige T., Hataoka H, Ando M. Hoshino E (2009)²². En Japón. Hicieron un estudio clínico retrospectivo de 161 dientes permanentes que necesitan nuevo tratamiento porque el tratamiento previo falló; las radiografías preoperatorias mostraron lesiones radiolúcidas periapicales en todos los casos. El re-tratamiento se llevó a cabo utilizando 3Mix-MP sin necesidad de retirar la obturación del conducto radicular anterior. Una porción (1 mm de diámetro) de la preparación estándar de 3Mix-MP se colocó y presionó sobre la obturación anterior en el orificio de los canales radiculares, sellado por cemento de ionómero de vidrio y restaurado por incrustaciones de resina. La buena respuesta clínica se definió como la ausencia de cualquier alodinia (percepción anormal del dolor) mecánica para morder y la desaparición o la reducción de

tamaños de resorción ósea alveolar radiolúcida y sin síntomas clínicos. Utilizando estos criterios, un buen resultado clínico fue encontrado en 158 casos, los 3 casos restantes fueron también considerados buenos después de realizar una nueva restauración para asegurar un cierre hermético.

Juni H. y Cols. (2010)²³. En Japón. El objetivo de este estudio fue comprobar que el tejido de la pulpa infectada e inflamada sobreviviría después del tratamiento clínico con aplicación local de una mezcla de fármacos antibacterianos. La muestra total fue 48 terceros molares: constaba de 15 dientes de pulpitis con la sintomatología clínica de dolor espontáneo, 24 dientes de pulpitis con exposición pulpar visible, y los 9 dientes con diagnóstico de necrosis pulpar. Una combinación de 3 fármacos antibacterianos, es decir, metronidazol, ciprofloxacina, y minociclina (3Mix), se mezcló adicionalmente con Macrogol (M) y propilenglicol (P). 3Mix-MP y se colocó en el piso dentinario de cavidades en el orificio del conducto radicular, luego se selló con cemento de ionómero de vidrio y reforzado con incrustaciones de resina compuesta. Se controló desde siete días a 19 meses después del tratamiento, los dientes se extrajeron. Fueron observados por micro-tomografía computarizada (CT) antes de descalcificación con etilendiaminotetracético (EDTA) solución 10% (pH 7,0). Inmunohistoquímica contra Nestin y Gen de la proteína producto (PGP). Se llevó a cabo además de hematoxilina y eosina, tinción de Giemsa y Azan. Micro-CT reveló que, en todo de los casos, las lesiones de caries se extendieron a las pulpas. Los resultados clínicos en el momento de extracción fueron buenos en todos los casos sin ningún síntoma clínico. Se comprobó que el tejido pulpar remanente y conservado pudo restaurar las funciones pulpares después LSTR : 3Mix-MP

Ibrahim K.M. (2012)²⁴. En la India. El objetivo fue evaluar la esterilización de las bacterias en el sistema de conducto radicular constituyéndose este en un gran problema Algunas bacterias pueden permanecer en el conducto radicular incluso después de usar medicamentos convencionales. Evidencias sugieren que *Enterococcus faecalis* (E. faecalis) causó importantes infecciones del conducto radicular, por lo tanto, su eliminación del organismo es importante

para lograr un tratamiento éxito. Se planteó la siguiente Hipótesis de investigación: La esterilización del conducto radicular con lesión: la esterilización y la reparación de tejidos (LSTR) con 3Mix- MP, terapia que se pensaba podría ser más eficaz contra *E. faecalis* en comparación con solo antibiótico y se realizó el estudio in-vitro de corte transversal con el tipo de intervención de estudio para observar la zona de inhibiciones por *E. faecalis* con cultivos de 3 mix (metronidazol, ciprofloxacina y minociclina) y hidróxido de calcio (control). Los resultados mostraron que 3Mix-MP era suficientemente capaz de inhibir el crecimiento de *E. faecalis*.

2.3 Bases Teóricas

2.3.1 Patología Endodóntica

La patología endodóntica es una enfermedad bacteriana, y el tejido periapical se involucra cuando estas bacterias invaden la pulpa, produciendo necrosis parcial o total. Diversos estudios, comenzando por el realizado por Kakehashi y cols. 1965, y seguido de los realizados por Korzen y cols. 1974, Moeller y cols. 1981, entre otros, han mostrado que la patología periapical es el resultado de las bacterias, sus productos y la respuesta del hospedero a los mismos ²⁵⁻²⁶

Las bacterias son la causa principal y más común de inflamación pulpar y periapical ²⁶. De hecho la relación entre la inflamación periapical y la infección bacteriana quedó muy bien establecida en el estudio de Kakehashi en 1965 ²⁵ que al realizar exposiciones pulpares en ausencia de microorganismos no se desarrollaban lesiones periapicales, y por el contrario se observaba reparación tisular; en cambio en las pulpas expuestas en presencia de microorganismos si se producía necrosis y lesión periapical. Estudios subsecuentes confirman la relación causa-efecto entre la infección pulpar y la periodontitis apical (Sundqvist 1976)²⁷

Cuando las bacterias desarrollan una inflamación en la pulpa y no se efectúa un tratamiento precoz, en un período de tiempo variable, la inflamación se extiende y puede llegar a la necrosis. Las bacterias y sus componentes alcanzarán el periodonto a través del orificio apical o de los conductos accesorios produciendo una periodontitis ²⁶.

Estudios microbiológicos como los de Sundqvist 1976, Farber 1988, y Sundqvist 1994 en conductos infectados crónicamente coinciden en que los microorganismos mayormente aislados son anaerobios y gram negativos.

Se puede decir que las principales bacterias involucradas en la infección pulpar y periapical son las siguientes²⁸:

- Prevotellas
- Porfiromonas
- Peptostreptococos
- Estreptococos
- Enterococos
- Campilobacter
- Fusobacterium
- Eubacterium
- Propionibacterium

Hay que destacar que diferentes estudios en animales demuestran que a medida que los anaerobios estrictos aumentan, los anaerobios facultativos disminuyen (Fabricius y cols. 1982, Yamasaki y cols. 1992, Tani-Ishii y cols. 1994) ²⁸.

La severidad de la inflamación periapical ha sido directamente relacionada con microorganismos dentro de los conductos radiculares y a su exposición prolongada. En contraste no hay evidencia de que la pulpa necrótica pueda producir inflamación periapical ²⁸.

También el estudio de Sundqvist en 1994 demostró que los microorganismos interactúan entre sí haciéndose más virulentos; dentro de ellos podemos destacar a Prevotellas y Porfiromonas, Fusobacterium y Peptostreptococos los cuales mostraron incremento en la destrucción ósea. De igual forma estudios como el de Griffée y cols. en 1980, y Sunqvist en 1989 demostraron una directa relación entre los síntomas agudos y la presencia de infección por microorganismos como Prevotellas y Porfiromonas²⁸.

La inflamación periapical se inicia antes de que se complete la necrosis pulpar, pudiendo existir lisis ósea en el periápice, visible en las radiografías, sin necesidad de que esté destruido el tejido pulpar en la zona apical del conducto. Además, las fibras nerviosas son las últimas estructuras en destruirse (Nair 1995), lo que explica la aparición de dolor al instrumentar dicha zona en dientes con periodontitis²⁸.

2.3.2 Periodontitis Apical

Cuando al tejido periapical llegan gérmenes poco virulentos, en escasa 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 apical²⁹

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, en menos cantidad IgM y C3 del sistema de complemento, originando una respuesta específica humoral, e inespecífica celular. Además existe una marcada reacción vascular, produciéndose un tejido de granulación (el llamado granuloma periapical). Se dice que este tejido de granulación está

más o menos delimitado por una reacción fibrosa que en ocasiones constituye una pseudocápsula. También pueden observarse células epiteliales provenientes de los restos epiteliales de Malassez, en diferentes grados de proliferación. Estas lesiones tienen por lo general 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 y ocasiona destrucción ósea que puede ser visible en las radiografías ²⁵.

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 ²⁵.

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. Otra posible evolución es la formación de un quiste ²⁵. En algunos casos el tejido periapical responde al proceso inflamatorio crónico de intensidad leve, produciendo hueso compacto alrededor del ápice; esta lesión es conocida como osteítis condensante ²⁵.

✓ ***Periodontitis Apical Crónica***

La resorción ósea apical, identificada radiográficamente como una imagen radiolúcida, es una característica diagnóstica importante de la periodontitis apical. Tal como se ha descrito anteriormente, las bacterias y sus productos son considerados el principal agente etiológico de la necrosis pulpar y las lesiones periapicales³⁰ Por lo tanto, el objetivo del tratamiento

endodóntico es eliminar los microorganismos del sistema de conductos radiculares y prevenir la sobreinfección del mismo.

Cuando el tratamiento es capaz de realizar esta desinfección de forma apropiada, usualmente cicatriza la lesión periapical por regeneración ósea; proceso que se caracteriza por una reducción gradual y finalmente la resolución de la imagen radiolúcida periapical, observada en las subsecuentes radiografías de control del tratamiento³⁰

La periodontitis apical constituye un factor de gran influencia en el pronóstico del diente endodónticamente tratado, estableciéndose su tasa de éxito entre 62-86%, disminuyendo su tasa de éxito entre 10-25% en comparación al diente sin periodontitis apical³⁰

En la mayoría de los casos, el fracaso endodóntico es atribuido a la persistencia de infección intrarradicular^{31,32} cuando los procedimientos del tratamiento no cumplen con los estándares satisfactorios para el control y eliminación de esta microbiota, o se suscita la recontaminación del sistema de conductos radiculares por vía coronaria.

Los microorganismos persistentes en los conductos radiculares pueden haber estado presentes originalmente en la pulpa necrótica y sobrevivir a los procedimientos de limpieza químico-mecánica. Estos pudiesen estar localizados en conductos no tratados, ramificaciones y áreas no instrumentadas del sistema de conductos radiculares^{33,34} En la mayoría de los casos, el fracaso del tratamiento endodóntico es el resultado de la persistencia de microorganismos en la porción apical del sistema de conductos radiculares.³³

Sjögren et al estudiaron el papel de los microorganismos persistentes en el resultado y pronóstico del tratamiento endodóntico no quirúrgico, reveló que el estado microbiológico del sistema de conductos radiculares al momento de la obturación es un factor crítico en la determinación del resultado del tratamiento. El porcentaje de éxito en casos de obturación

con cultivos negativos fue de un 94%, lo que se consideró estadísticamente significativo en comparación con un 68% de éxito en casos con cultivos positivos.³⁴

Las bacterias localizadas en áreas tales como istmos, ramificaciones, deltas, irregularidades y túbulos dentinarios pueden a veces no ser afectadas por los procedimientos de desinfección endodóntica. Es probable que el suministro de nutrientes a las bacterias ubicadas en las ramificaciones y deltas apicales se mantenga inalterado después del tratamiento endodóntico. Sin embargo, las bacterias presentes en los túbulos dentinarios e istmos pueden sufrir una drástica reducción del sustrato. En algunas regiones anatómicas, las bacterias quedan atrapadas por el material de obturación y generalmente mueren o se evita que proliferen hacia los tejidos periapicales.³⁵

Por otra parte, las bacterias provenientes de la cavidad bucal pueden contaminar el sistema de conductos radiculares durante el tratamiento debido a un control inadecuado de la asepsia. Un estudio realizado por Siren et al analizaron la relación entre los resultados microbiológicos y los procedimientos clínicos del tratamiento³⁴ los hallazgos de esta investigación demostraron que en aquellos casos donde hubo ausencia de sellado coronario en algún momento del tratamiento fueron encontradas bacterias entéricas con más frecuencia que en casos con sellado adecuado entre citas. De los casos con bacterias entéricas, el 55% había estado en comunicación con el medio bucal durante el tratamiento. Así mismo, este tipo de bacterias se aisló con más frecuencia en casos con un alto número de citas antes de la toma de las muestras. De estos resultados se deriva la importancia de la asepsia controlada a lo largo del tratamiento de conductos no quirúrgico.

Otra forma de infección por vía coronaria, es la que se suscita posterior al tratamiento endodóntico. Ray y Trope en 1995 estudiaron la relación de la calidad de la restauración coronaria y de la obturación endodóntica con el estatus periapical de dientes tratados endodónticamente.³⁶ Sus resultados

indican la importancia crítica de la restauración coronaria sobre el éxito del tratamiento de conductos y provee evidencia clínica de que la obturación radicular no es una barrera adecuada ante la microfiltración. Así mismo, ha sido afirmado, que el riesgo a sobreinfección es dependiente de la calidad de la obturación radicular y coronaria en conjunto³⁷

En 1994, la Sociedad Europea de Endodología, en cooperación con la Sociedad Británica de Endodontistas publicaron los criterios a tomar en cuenta para evaluar los dientes tratados endodónticamente. Los criterios a evaluar consisten en: sensibilidad a la palpación, movilidad dentaria, presencia o no de enfermedad periodontal, trayecto fistuloso, función del diente tratado, signos de infección o inflamación y síntomas subjetivos³⁸

Según estos criterios, el tratamiento se considera inaceptable si presenta síntomas subjetivos persistentes, trayecto fistuloso recurrente o inflamación, incomodidad reproducible después de percusión, palpación o masticación, movilidad excesiva o deterioro periodontal progresivo o imposibilidad de masticación con el diente afectado.³⁸

Clínicamente los casos de periodontitis apical crónica pueden presentarse tanto asintomáticos como sintomáticos. Pinheiro et al. analizaron la relación existente entre los microorganismos involucrados en esta patología y la sintomatología asociada. Estos autores apuntan que de un total de 60 casos, sólo cinco refirieron dolor agudo. El resto no manifestó dolor espontáneo, sin embargo, veinte de estos reseñó historia de dolor. De igual forma, otro factor evaluado fue el dolor a la percusión, donde veinte casos respondieron positivo. Del total de dientes estudiados, cinco casos presentaron trayecto fistuloso. Otro signo evaluado por los autores antes referidos fue la presencia de restauración coronaria definitiva. De los sesenta dientes evaluados, 37 presentaron restauraciones permanentes de las cuales 22 estaban defectuosas y 15 aceptables. Diez dientes presentaron restauración provisional defectuosa fisurada o fracturada y 13 no presentaron ningún tipo de restauración coronaria³⁹.

Las actividades biológicas de la periodontitis apical crónica pueden afectar ligamento periodontal, lámina dura, hueso esponjoso, hueso cortical y estructura radicular.

El ligamento periodontal provee el espacio para el infiltrado celular inicial. Este sirve como punto de partida de los procesos resorptivos así como de punto final de los procesos de cicatrización. Un ligamento periodontal ensanchado está asociado con inflamación inicial o residual, y aparece como signo de inflamación crónica⁴⁰

Andreasen y Rud apuntan que si el grosor del ligamento periodontal es más del doble de su espesor original, está presente una inflamación moderada o severa.⁴¹ En caso de la periodontitis apical, el ensanchamiento del ligamento se limita al área periapical. Este ensanchamiento puede estar, en ocasiones, asociado a un ligero exceso de material de obturación en casos de dientes endodónticamente tratados donde persiste la toxicidad o la colonización microbiana⁴²

Los cambios en la integridad de la lámina dura también son indicativos tempranos de lesión periapical y estos pueden ser visibles radiográficamente.⁴ Sin embargo, ninguno de estos cambios son patognomónicos de las etapas iniciales o de cicatrización de la periodontitis apical crónica⁴⁰

Las estrategias para combatir la infección se deben basar en un amplio conocimiento de la microflora endodóntica. Sin embargo, mientras la microbiota de pulpas necróticas ha sido estudiada exhaustivamente, la microbiología relacionada con el fracaso endodóntico está escasamente documentada.⁴³

La microbiota detectada en dientes con tratamiento de conducto con periodontitis apical crónica varía sustancialmente de la identificada en dientes con pulpa necrótica con periodontitis apical crónica. Bender y Seltzer en 1952, reportaron la presencia de microorganismos resistentes a

la terapia endodóntica, evidenciándose la presencia de crecimiento microbiano, el cual consistía básicamente en hongos y bacterias tales como *Enterococcus spp.* y *Streptococcus spp.* Doce años más tarde, Engstrom y Frostell reportaron crecimiento microbiano en dientes tratados endodónticamente en un porcentaje de un 38%, se demostró que la microbiota predominante era básicamente anaerobios facultativos y anaerobios estrictos⁴⁴

Un estudio de gran relevancia en la microbiología de dientes tratados endodónticamente con lesiones periapicales, fue publicado por Molander et al que evaluaron el estado de la microbiota intrarradicular de 100 casos de periodontitis apical crónica persistente. Todos los dientes presentaron tratamiento de conducto con no menos de cuatro años postoperatorios. Los fracasos fueron clasificados según el criterio de Strindberg, y todos se presentaron asintomáticos. El tamaño de las lesiones fue establecido radiográficamente y fue de 2 mm. en 14 casos, entre 3 y 5 mm. en 56 casos y 5 mm. en 30 casos.⁴⁵ Los resultados demostraron la presencia de microbiota dentro del conducto en 68 de los 100 casos estudiados, detectando 117 especies microbianas. En la mayoría de los conductos, fueron aisladas de 1-2 especies (85%) con predominio de anaerobios facultativos Gram positivos (69%). El microorganismo detectada con mayor frecuencia fue *Enterococcus spp.*, en 32 dientes. En 20 de los casos el crecimiento fue muy abundante. También fueron aisladas en cantidades importantes *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.* y *Cándida albicans*.

Molander y cols concluyen que generalmente las bacterias anaerobias facultativas son menos sensibles a la actividad antimicrobiana que los anaerobios estrictos y, por lo tanto, es de esperarse que persistan más frecuentemente en conductos radiculares después de un tratamiento endodóntico inadecuado. Cuando los microorganismos anaerobios facultativos han estado en una fase latente con baja actividad metabólica

por un período, los cambios en las condiciones nutricionales desencadenan su crecimiento⁴⁵

Un estudio reportado por Cheung y Ho realiza un interesante análisis microbiológico de dientes tratados endodónticamente con lesiones periapicales asintomáticas, con una muestra de 18 casos, de más de cuatro años posteriores a la terapia endodóntica inicial, investigaron la microbiota intrarradicular relacionada, señalaron la presencia de microorganismos en el 67% de los casos, con prevalencia de cocos Gram positivos anaerobios facultativos. No observaron asociación entre el tamaño de la lesión periapical y el número de colonias aisladas. Se aislaron un total de 22 especies microbianas, entre cero y seis por conducto corroborando los resultados de estudios anteriores acerca de la importante diferencia entre la microbiota de conductos tratados y no tratados endodónticamente.⁴⁶

Pinheiro y cols encontraron que los microorganismos más frecuentemente encontrados correspondieron a *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas pp.* y *Staphylococcus* (coagulasa-negativa), así mismo, no se detectó la presencia de espiroquetas. La especie bacteriana aislada más frecuentemente fue *E. faecalis*, evidenciándose en un 52,94% de los casos, estando presente como único microorganismo en 18 de 27 muestras.⁴⁷ En la misma línea de investigación, Pinheiro y cols realizaron un segundo estudio donde analizaron a profundidad, los microorganismos asociados al fracaso endodóntico, y específicamente, su sensibilidad a ciertos antibióticos; de los 30 casos examinados, lograron aislar 29 especies bacterianas. Seis de las muestras no arrojaron cultivos positivos, trece casos correspondieron a infecciones producidas por una sola especie, dos casos presentaron dos especies, y nueve casos correspondieron a infecciones polimicrobianas.⁴⁸

Los géneros bacterianos más frecuentemente aislados fueron *Enterococcus* (36,7%), *Streptococcus* (30%), *Peptostreptococcus* (23,3%), *Actinomyces* (13,3%), *Prevotella* (10%), *Staphylococcus* (10%),

Gemella(10%), *Fusobacterium* (6,7%), *Lactobacillus* (6,7%), *Propionibacterium* (3,3%) y *Haemophilus* (3,3%).⁴⁸

Otro de los mecanismos de resistencia sugeridos por algunos autores en relación a *E. faecalis* está relacionado con la formación de biopelículas. Un estudio publicado en 2002 por Noiri et al comprobó, a través del microscopio electrónico de barrido, la colonización del microorganismo en 46 dientes medicados con hidróxido de calcio y del mismo modo, fue evidenciada la presencia de biopelículas bacterianas en la pared de los conductos radiculares medicados con hidróxido de calcio.⁴⁹

2.3.3 Biofilm Endodóntico

El Biofilm ó biopelícula es definida como una población microbiana adherida a un sustrato orgánico o inorgánico rodeada de productos extracelulares la cual forma una matriz intermicrobiana⁵⁰

Los microorganismos, organizados en biopelículas muestran una alta resistencia tanto a los agentes antimicrobianos como a los mecanismos de defensa del hospedero. Tronstad et al. en 1990 demostró la presencia de estas biopelículas en lesiones perirradiculares adyacentes al foramen apical y en colonias bacterianas dentro de granulomas periapicales, los resultados de este estudio sugieren la posibilidad de que este mecanismo facilite la persistencia de la periodontitis apical crónica; sin embargo, el porcentaje de biopelículas en lesiones perirradiculares de dientes no tratados endodónticamente es bastante bajo (4%), por lo que constituyen un mínimo porcentaje de los casos fracasados.^{50,51}

Noiri et al. en 2003 investigaron la participación de biopelículas bacterianas en once casos de periodontitis apical crónica persistente bajo MEB, en nueve de las muestras se observaron biopelículas bacterianas en el área extrarradicular. Se demostró la presencia de espiroquetas y la baja frecuencia de cocos y bacilos en los casos relacionados con estos mecanismos, sí mismo, fue determinada la posibilidad de infección por

parte de la biopelícula, tanto en la fase aguda como en la fase crónica de la periodontitis apical, y su resistencia a las respuestas inmunitarias del hospedero.⁵³

Costerton (1987) citado por Serrano-Granger J. Y Herrera D. (2005) afirma que un Biofilm es la forma de crecimiento más frecuente de las bacterias y se definió en un principio como una comunidad de bacterias adheridas a una superficie sólida e inmersa en un medio líquido (Serrano-Granger J. y Herrera D. 2005). Donlan y Costerton (2002) citados por Gonçalves J. (2007) definen la biopelícula como una comunidad microbiana sésil e inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que están irreversiblemente adheridas a un sustrato, interfase o las unas a las otras, permaneciendo embebidas en una matriz de polisacáridos extracelulares que ellas mismas producen, exhibiendo un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción genética. Donlan continúa diciendo que cada comunidad microbiana en las biopelículas es única, aunque algunos atributos estructurales pueden ser generalmente considerados universales.⁵⁴

Lo primero que se debe resaltar en este sentido es que la unidad básica estructural de la biopelícula es la microcolonia, la cual facilita la proximidad entre las células favoreciendo un ambiente ideal para la creación de gradientes de nutrientes, intercambio de genes y quórum sensing (Gonçalves J. 2007).^{55,56}

Los biofilms entonces se definen como “matriz de polisacáridos que incluye poblaciones bacterianas adheridas una a la otra /o a las superficies o interfaces” (Distel J. W. y col.2002). Burleson Aaron y col sostienen que el Biofilm ha sido descrito como una compleja agregación de bacterias asociadas con una superficie y embebidas en una matriz de polisacárido extracelular (Burleson A. y col. 2007; Dreeszen P. 2003; Duggan J. y col. 2007)⁵⁷.

Según la OMS, el Biofilm se puede definir también como un ecosistema bacteriano proliferante y enzimáticamente activo. Los biofilms se unen a superficies inertes, tanto biológicas como sintéticas. Dentro de las biológicas optan preferentemente por tejidos necróticos⁵⁸

En actualidad el nuevo concepto de infección en Endodoncia es el Biofilm, que es la causa de fracasos de tratamientos de conductos aparentemente correctos⁵⁹. Produce en el paciente signos y/o síntomas clínicos leves o imperceptibles durante su crecimiento, debido a una baja tasa de división bacteriana, inusual en los organismos bacterianos individuales; además, dicha capacidad de resistencia es la característica principal del Biofilm y no la virulencia, aunque no carece de ella, por lo que se trata de cuadros de avance lento y leve, pero de muy difícil erradicación⁶⁰

Se ha postulado que la asociación de bacterias en forma de Biofilm no es más que un mecanismo de adaptación de estos microbios a un entorno nuevo, generalmente hostil⁶¹. Chávez de Paz y col. opinan que el Biofilm no es raro ni infrecuente en el conducto necrótico sino que es la forma de vida bacteriana más habitual, y que es incorrecto pensar que son entidades excepcionales solo porque sea reciente su conocimiento y estudio en endodoncia. Dicha asociación puede ser entre bacterias de la misma o de distinta especie⁶², la primera de ellas se denominada autoagregación y la segunda coagregación; la coagregación esta considerada una forma de Biofilm más compleja y difícil de eliminar, ya que bacterias de distinta especie pueden compartir distintos mecanismos de defensa en pos del mantenimiento de la comunidad asociada en Biofilm (^{63,64,65}). Otro estudio concluye que las bacterias endémicas de la flora bucal tienen mayor tendencia a formar biofilms mediante coagregación, por lo que su erradicación podría ser más complicada, para Siqueira y Rocas los casos de infección periapical crónica deben considerarse, al día de hoy, causadas por infecciones de tipo Biofilm.⁽⁶⁵⁾

Las formas de Biofilm se han descrito muy variadas, desde pequeñas formaciones hasta cadenas de Biofilm, pero la formación más característica

encontrada es la de Biofilm en forma de champiñón (mushroom-shape). Estas colonias se observan al microscopio como estructuras unitarias de la forma señalada, separadas de otras por canales de agua, todo dentro de la matriz de polisacárido. Se piensa que estos canales permiten la distribución de los nutrientes y la eliminación de los residuos de las colonias, así como la atenuación de los agentes biocidas externos, tales como antibióticos, irrigantes y medicaciones intraconducto ^(58, 61).

Se postula que este tipo de organización bacteriana se trata de un Biofilm con un alto nivel de organización y se asemeja a un prototejido, con un primitivo sistema circulatorio (los canales de agua). Además, en los estudios consultados, estas formaciones solo se originaron en Biofilm de larga evolución y no en los casos de colonias jóvenes e inmaduras ^(8,10,37,56,58,61,66).

Para Siqueira y Rocas⁶⁵ los casos de infección periapical crónica deben considerarse, al día de hoy, causadas por infecciones de tipo Biofilm. Se ha postulado que la asociación de bacterias en forma de Biofilm no es más que un mecanismo de adaptación de estos microbios a un entorno nuevo, generalmente hostil ^(55,67,68).

El proceso de formación del Biofilm en el conducto radicular es aún muy desconocido. La teoría mas aceptada consta de cuatro fases y fue descrita por Svensater y Bergenholtz: En la primera fase se forma una película adhesiva sobre la dentina promovida por el depósito de proteínas y otros compuestos derivados de las bacterias en suspensión, del proceso necrosis y/o inflamación, etc. En la segunda, sobre esa película pegajosa, se fijan algunas bacterias específicas con capacidad de adhesión, de todas las que estan en suspensión. En la tercera, la primera capa de bacterias ya adherida, segrega mediadores que, por un lado van fijando mas y mas bacterias, de esa estirpe o de otras, y por otro, va formando la matriz extracelular de polisacárido, primera barrera defensiva característica del Biofilm. En la cuarta y última, el Biofilm va madurando y creando sistemas de defensa más complejos. Al mismo tiempo, arroja bacterias al exterior

que cronifican la respuesta inflamatoria del huésped. Siqueira y Rocas exponen que en esta etapa el conjunto del Biofilm puede consistir en 15% de bacterias y 85% de matriz de polisacáridos, además de contar con más de 300 capas de bacterias superpuestas.⁶¹

2.3.4 Formación y Evolución del Biofilm

El conocimiento de esta forma de vida bacteriana no ha sido evidente hasta hace relativamente pocos años, debido a los métodos de estudio microbiológico, cuyo objetivo no era las bacterias en Biofilm, sino bacterias de estirpes únicas y en suspensión, fundamentalmente. Hasta la fecha, la estrategia de estudio de las bacterias en endodoncia puede considerarse reduccionista, es decir, a partir de hallazgos de pocas estirpes o colonias bacterianas se explicaba una infección mayor. En cambio, y a tenor de la complejidad del Biofilm y de su estudio, diversos autores promueven trabajos de tipo holístico, es decir, no sólo estudiar individuos sino sus interacciones en la comunidad para obtener datos más reales acerca del Biofilm y proponer tratamientos más específicos⁶¹

La teoría más aceptada hasta el momento respecto a la supervivencia del Biofilm admite que no es más resistente el Biofilm compuesto por bacterias resistentes en solitario, sino que es más resistente cuanto mayor número de bacterias con capacidad de autoagregarse y, sobre todo, de coagregarse lo integren. A más tiempo de evolución, más tiempo para mejorar y sofisticar los sistemas de defensa del Biofilm por parte de diferentes estirpes bacterianas⁶⁷ Incluso, en la actualidad, los microbiólogos consideran como un factor de virulencia más de las bacterias la capacidad de asociarse en biofilms, es decir, entre dos estirpes bacterianas distintas que presenten parámetros similares de tasas de división, permanencia en tejido vivo, capacidad de liberar endotoxinas, etc., se considera una estirpe más peligrosa aquella que haya mostrado más capacidad para iniciar un biofilm⁶⁶

Otra característica importante de la evolución Biofilm es que puede aislarse del hábitat que le rodea si éste se vuelve exageradamente hostil y se han descrito formaciones en estado inerte en medios extremos. El Biofilm puede mantener dicho status por un tiempo, a la espera de que la situación del medio mejore, antes de perecer. Si el medio cambia a mejor, el Biofilm abandona el estado de latencia y sigue desarrollándose. Si el ambiente extremo se mantiene tiempo suficiente, puede hacer inviable la existencia del Biofilm. Por ello, los estudios enfocan el tratamiento hacia la eliminación directa o indirecta del Biofilm. La eliminación directa consiste en la remoción y/o lisis de la entidad mediante la instrumentación y, sobre todo, la irrigación. La eliminación indirecta consistiría en alterar el hábitat lo suficiente como para hacerlo hostil al Biofilm, en un primer paso y mediante la irrigación.⁶⁶

✓ **Mecanismos De Defensa Del Biofilm**

El Biofilm se caracteriza, fundamentalmente, por una gran capacidad de resistencia , esta capacidad se ve aún más aumentada en el interior del sistema de conductos ya que, como se ha explicado anteriormente, su anatomía proporciona zonas de difícil acceso a los agentes desinfectantes. Los sistemas de defensa conocidos hasta el momento con los que cuenta esta entidad infecciosa se resumen a continuación. La matriz de polisacáridos supone una barrera física y química, que evita la penetración de agentes externos indeseables, cambios de pH, etc., manteniendo un ambiente interior adecuado para la supervivencia y es considerado uno de los mecanismos más importantes⁶⁶ ; un aspecto interesante que se apunta es que este aislamiento del exterior pero con vías de comunicación interna fomenta el intercambio de material genético entre las bacterias que lo forman, favoreciendo las resistencias y, por tanto, aumentando la capacidad de defensa del Biofilm⁽³⁷⁾ .

Las enzimas producidas por el Biofilm, promueven la adhesión a otros sustratos o de otras bacterias y también actúan inactivando agente químicos antiinfecciosos⁶⁶

El Biofilm puede ir desprendiendo bacterias sobrantes de su interior de forma paulatina para “distráer” la atención de los mecanismos de defensa del huésped, cronificando el proceso y ocasionando en el paciente picos de signos y/o síntomas puntuales que remiten tras la administración de antibióticos pero sin curar el “nido de origen” El metabolismo interno presenta una tasa de actividad muy inferior al de las bacterias en suspensión (las estudiadas comúnmente), ralentizando el gasto de nutrientes, por lo que éstos, se economizan. Además, la tasa de división de las bacterias del Biofilm es baja, por lo que también se ahorran nutrientes y el efecto de los antimicrobianos que inciden en esa división (como los antibióticos bacteriostáticos) se reduce. Otros autores afirman que las bacterias están organizadas dentro del Biofilm de tal manera que su situación favorezca al propio Biofilm .Por último, se cree que en el Biofilm existe una estirpe bacteriana primordial, con muy baja tasa de división y gran capacidad de supervivencia, que se encuentra en fase inactiva pero que se activa cuando el medio externo se vuelve más hostil, para producir nuevas cepas bacterianas que perpetúen el biofilm⁶⁶

En resumen, el Biofilm tiene mayor capacidad de defensa que las bacterias en suspensión porque interacciona menos con el medio donde vive y depende menos de él, además de que su tasa de mitosis es mucho menor. Las bacterias asociadas en Biofilm no fomentan infecciones agudas, sino crónicas, debido al tipo de metabolismo del mismo y sus características.⁶⁶. Siqueira y Rôças⁶⁵ llegan a originalizar este concepto y lo bautizan como “Biofilm lifestyle”.

2.3.5 Composición Bacteriana del Biofilm

Los tipos bacterianos observados en el Biofilm de origen endodóntico son, fundamentalmente, cocos, bacilos y filamentos, aunque ocasionalmente se han detectado espiroquetas. Las especies del género *Prevotella* son muy frecuentes debido a su capacidad de autoagregarse y coagregarse⁶⁶. Otros autores opinan que el *Fusobacterium nucleatum* es el componente central de muchos de los biofilms en infecciones odontogénicas, gracias a su enorme capacidad de coagregación y de resistencia a biocidas e incluso algunos consideran el *F. nucleatum* la bacteria clave o “puente” para el desarrollo del Biofilm. Ozok y cols. encuentran sinergismo en la asociación en forma de Biofilm de *Peptostreptococcus micros* y *F. nucleatum*. Metzger y cols) comprobaron en varios estudios la importancia del *F. nucleatum* para iniciar biofilms y la afinidad con la *Porphyromonas gingivalis*. Respecto al estudio del *Enterococcus faecalis* en relación al Biofilm, se dice que la resistencia de esta bacteria a ser eliminada del interior del conducto, ya sea con instrumentación, irrigación y/o con medicación intraconducto, se debe a que puede asociarse en forma de Biofilm, George y cols. analizaron la ultraestructura del Biofilm de *E. faecalis* combinando medios ricos y pobres en nutrientes con medios aeróbicos y anaeróbicos en dientes extraídos. En sus resultados, exponen que el Biofilm más desarrollado en madurez y organizaciones el que se da en un medio rico y anaeróbico, advirtiendo incluso las estructuras en forma de champiñón y canales de agua descritas por Distel y cols. En cambio, el medio rico y aeróbico formaba más cantidad de Biofilm pero de menor organización, aunque era el más proclive a invadir los tubulillos dentinarios en profundidad.

Puede ser que a al aumentar la cantidad de microorganismos, éstos buscan nuevas zonas de colonización, huyendo de la masificación, como ya expresaron Peters y cols. Se observa que los biofilms que crecen en medios pobres de nutrientes, aunque presentan un número de bacterias significativamente menor que los de medios ricos, aumentan el ratio calcio/fósforo en suspensión y degradan más la dentina que les rodean, por lo que se cree que, en esas circunstancias de supervivencia compleja,

estos biofilms tienden a calcificarse para aumentar sus defensas y ser aún más resistentes ^(68.). Estos hallazgos se podrían resumir en que las bacterias inmersas en ambientes ricos de nutrientes están más predispuestas a procrear e invadir y las de ambientes pobres a defenderse y resistir⁶⁶

Se han descrito formaciones de Biofilm tanto en el interior del conducto radicular como en la superficie externa de la raíz. Dicha localización determinará el tipo de tratamiento, ya que no se enfocará de igual manera si se trata de Biofilm intrarradicular o extrarradicular ⁽⁶⁶⁾.

El más frecuente es el Biofilm intrarradicular, alojado en zonas de difícil acceso, mientras que las bacterias en suspensión se reparten por todo el sistema de conductos. Las zonas accesibles a las limas no necesitan de más ayuda para la eliminación de ambos tipos de presentación bacteriana, pero muchas zonas de este sistema no están al alcance de las limas, por lo que no pueden contactar con la infección y eliminarla. Nair y cols.⁽⁸⁾ encontraron conductos en los cuales permanecían istmos inalterados por la preparación biomecánica, después de haber empleado tanto limas manuales como rotatorias, complementadas con soluciones irrigantes. En dichos istmos, no sólo persistía el Biofilm sino que dicha infección estaba asociada a tejido necrótico fibrodentinario. Argumentan que, de haber llegado los instrumentos, o al menos el irrigante, dicho tejido debía haberse desecho y haber desaparecido, poniendo en peligro la evolución del Biofilm e, incluso, provocar su muerte por inanición. La respuesta del Biofilm al contacto con el irrigante es un enigma, y no se puede saber si hubiese sido disuelto, pero se deduce que el contacto con la solución irrigante en el interior del istmo no se produjo por la presencia de ese tejido asociado.⁶⁶

2.3.6 Medicamentos Intraconductos

La medicación intraconducto o medicación tópica implica el uso interno de un medicamento con la intención de lograr efectos terapéuticos locales y no sistémicos. En endodoncia, se asocia este concepto al empleo de antisépticos en el tratamiento de conductos infectados, aunque también se emplean antibióticos localmente como alternativa medicamentosa, corticoides para combatir el dolor y la inflamación, hidróxido de calcio o pastas alcalinas para reducir o ayudar a cohibir hemorragias. A todo ello debe agregarse el empleo local de irrigantes y quelantes, coadyuvantes químicos de la instrumentación ⁶⁸

Schilder y Ámsterdam⁶⁹ definen los medicamentos endodónticos como agentes usados dentro de la cámara pulpar y de los conductos radiculares con propósitos de irrigación, esterilización y disminución del dolor u otros síntomas.

Goldberg y Soares⁶⁹ señalan que la medicación intraconducto se caracteriza por la colocación de un fármaco en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento endodóntico. La literatura médica empleo las expresiones medicación entre sesiones, medicación local y medicación intraconducto para denominar este procedimiento.

Chong y Pitt Ford⁶⁹ plantean que un medicamento es utilizado como agente antibacteriano para eliminar cualquier bacteria en el conducto radicular después de la instrumentación. También afirman que este medicamento no esteriliza el conducto radicular y no es un sustituto de la limpieza y preparación adecuada del conducto. El uso de medicamentos intraconductos entre citas ha sido rutina en la práctica endodóntica por muchos años como coadyuvante en el control de la contaminación bacterial⁶⁹

Messer y Chen⁶⁹ hacen el siguiente razonamiento: primero el medicamento puede reducir la flora microbiana por debajo de los niveles logrados durante la preparación del conducto, particularmente por penetrar en áreas donde los instrumentos o irrigantes no llegan. Segundo, un agente antimicrobiano al permanecer en el conducto entre citas, puede prevenir la reinfección del conducto radicular o reducir el riesgo de proliferación de bacterias residuales, las cuales pueden alcanzar los mismos niveles que tenían al comienzo de las sesiones previas⁶⁹

El uso de un medicamento intraconducto se considera uno de los pasos más importantes de la terapia endodóntica para obtener y mantener la desinfección del conducto radicular después de la instrumentación y antes de la obturación, incrementando significativamente las posibilidades de lograr un tratamiento endodóntico exitoso

La medicación entre sesiones en el tratamiento de conducto de dientes infectados está indicada cuando se encuentra una anatomía compleja del conducto, en la cual ciertas áreas no son accesibles a la instrumentación, sobre todo, cuando son dientes con necrosis pulpar y lesiones periapicales crónicas en los cuales el sistema de conductos radiculares está infectado, para lograr su desinfección

Varios autores han advertido de la necesidad de empleo de la medicación intracanal para evitar que las bacterias sobreviven la preparación químico mecánico se multiplican en el intervalo entre sesiones de tratamiento (Byström & Sundqvist 1983; Byström et al., 1985; Sjögren et al., 1990). Además, Leonardo et al (2005) abogan por el uso de un medicamento intracanal para inactivar la parte tóxica de los LPS (lípidos A).

Un medicamento intracanal ideal debe estar dotado de buena acción antibacteriana, para que su permanencia dentro del conducto radicular tenga mayores posibilidades de llegar a zonas no alcanzadas por la instrumentación, como istmos, hendiduras, túbulos dentinales, etc.; de esa forma podrían contribuir decisivamente a la reducción máxima de bacterias

que finalmente fueron protegidos de la acción letal de los irrigante químicos en el conducto radicular (Byström et al., 1987; Sjögren et al., 1991) ⁶⁶

Gurney en 1979, señalaba que los medicamentos en el interior de los conductos radiculares se emplean para:

- ❖ Control de la infección
- ❖ Posible control de la irritación periapical y de la inflamación
- ❖ Disolución de material orgánico
- ❖ Disolución de material inorgánico

En conductos radiculares infectados, la medicación intraconducto ha sido indicada para varios propósitos:

- ❖ Eliminar cualquier bacteria remanente después de la instrumentación del conducto
- ❖ Reducir la inflamación de los tejidos periapicales y remanentes pulpares
- ❖ Neutralizar el detritus tisular
- ❖ Actúa como una barrera contra la filtración de la obturación temporal
- ❖ Previene la reinfección del conducto y el aporte de nutrientes a las bacterias remanentes
- ❖ Controla abscesos y conductos con humedad persistente ^(18,54,62)

Otros objetivos de la medicación durante las sesiones de tratamiento son:

- ❖ Inducción de la formación de tejido duro, esto en los casos donde se busca que continúe el desarrollo de la raíz, para cerrar un ápice amplio o para crear una barrera mecánica en una línea de fractura
- ❖ Control del dolor
- ❖ Control del exudado o hemorragia
- ❖ Control de la resorción inflamatoria de la raíz, ocasionada por algún traumatismo dental y que puede estar acompañada de infección y daño de los tejidos periapicales

2.3.6.1 Criterios para la selección del medicamento

La selección de un medicamento intraconducto requiere de las mismas consideraciones que la aplicación de cualquier fármaco en otra región del organismo. Por lo tanto es necesario considerar:

- a. Cantidad. Se debe precisar la cantidad y la concentración del fármaco, para ejercer el efecto deseado sin lesionar los tejidos circundantes.
- b. Forma de colocación. Es indispensable tener en cuenta el mecanismo de acción de la sustancia para determinar la forma apropiada para su colocación. Por ejemplo, en los casos de necrosis pulpar con imagen apical, al utilizar hidróxido de calcio, que actúa por contacto, debe llenarse todo el conducto radicular con el medicamento
- c. Tiempo de aplicación. Es preciso conocer el tiempo que la sustancia permanece activa. Cada una tiene un tiempo de vida útil, después del cual su efecto se reduce o desaparece. Algunos medicamentos pierden sus propiedades en presencia de material orgánico como sangre, exudado y pus⁷⁰.

Varias sustancias antimicrobianas se han utilizado como medicamento intraconducto, para promover la reducción microbiana o la neutralización de la endotoxina.⁷¹ Estos productos químicos son: lejía (Niwa et al., 1969); polimixina B (otosporin, Oliveira et al., 2005), lisosomas (Ohno & Morrison, 1988), Formocresol (Sant ´ Ana et al., 2000), clorhexidina (Silva et al., 2004; Tanomaru et al., 2003), el hipoclorito de sodio (Oliveira et al., 2005; Poltorak et al., 1998; Tanomaru et al., 2003) e hidróxido de calcio con varias combinaciones (Silva et al., 2004, Tanomaru et al., 2003, Oliveira et al., 2005).⁶⁶

El hidróxido de calcio se ha utilizado comúnmente como medicamento intraconducto diversas situaciones clínicas, incluida la tratamiento de la periodontitis apical⁷¹. Esto se debe principalmente a su alto pH alcalino y la acción antibacteriana. La acción desinfectante de hidróxido de calcio es eficaz por lo menos durante una semana. Además el retraso en el tratamiento durante más de 1 mes aumenta la susceptibilidad de la re-infección⁴, ya que podría ser lavado por los fluidos de los tejidos a través de ápice abierto. Sin embargo el uso a largo plazo de hidróxido de calcio puede reducir la resistencia a la fractura de los dientes⁵. Tradicionalmente hidróxido de calcio se ha usado en el caso de los dientes inmaduros con necrosis de la pulpa para Apicoformación⁴. Sin embargo, se induce la barrera calcificada cuando entra en contacto directo con el tejido vital en el canal de la raíz y evitar el crecimiento de tejido de la pulpa en el interior del espacio del conducto radicular.

Aunque anterior estudios han establecido que los enterococos son generalmente resistentes a los apósitos de hidróxido de calcio⁶⁹, los intentos de mejorar la eficacia de las pastas de hidróxido de calcio se han propuesto con la adición de productos químicos tales como paraclorofenol

Pasta Calen PMCC®

La asociación de la pasta de hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado - PMCC Calen™ (SS White Artigos Dentários Ltda.) en comparación con hidróxido de calcio solo muestra mejor eficacia antibacteriana. Esta asociación permite la formación paraclorofenolato de calcio, que es responsable de la liberación controlada de medicamento al sistema conductos, que extiende el tiempo de acción de la pasta. El paramonoclorofenol asociado al alcanfor mejora los resultados clínicos en función a sumejor difusión además de atenuar su efecto irritante, su uso esta en relación con la eliminación delos agentes patógenos del sistema de conductos⁽⁶⁹⁾

Indicaciones

Calen PMCC es el agente de medicación elegido para Necropulpectomia, se utiliza como " fin curativo " (medicamento tópico entre las sesiones), en los casos de:

1. Tratamiento del conducto radicular de dientes con necrosis pulpar, sin periapical visible (Necropulpectomia I)
2. Tratamiento de conducto radicular de dientes con necrosis pulpar, con una imagen radiolúcida periapical visible. (Necropulpectomia II)
3. Lesiones refractarios en tratamiento endodóntico
4. Fístulas persistentes
5. Re - tratamiento
6. Persistente exceso de exudado

Algunas de las ventajas de Calen PMCC®

- a. Calen con PMCC® está listo para un uso clínico inmediato, siendo su aplicación en el conducto radicular de manera fácil y simple, que sólo requiere una jeringa ML endodóntico tradicional émbolos especialmente diseñado para este propósito.
- b. Consistencia cremosa que permite un drenaje perfecto hasta el ápice.
- c. Estimula la deposición de tejido mineralizado, produciendo un cierre apical completa, en la mayoría de los casos.

Composición de la Fórmula

- Hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado

Hidróxido de calcio..... 48.32 g%

Paramonoclorofenol..... 0.72 g%

Alcanfor..... 2.16 g%

Excipientes: óxido de zinc, colofonia y PEG 400

- Glicerina

Glicerina..... 100,00 g%

Protocolo de uso:

1. Coloque la jeringa endodoncia pistón ML con tornillo para la aplicación de colocar una aguja desechable 27 G-Larga previamente curvado , según sea apropiado , siempre y cuando se coloque el tope de goma en la medida (según la conductometría).
2. Desenroscar el pistón. Sostenga la jeringa en posición vertical, inserte el núcleo. A continuación, empuje hacia adelante para la aguja perfora la membrana de goma del núcleo.
3. Pase el émbolo para aplastarlo ligeramente en columna de pistón.
4. Lubricar la luz de la aguja con glicerina estéril suministrado en el kit en un núcleo. Este procedimiento favorece el paso del material de glicerina.
5. Extraiga el cartucho y coloque el hidróxido Calcio con paramonoclorofenol alcanforado, teniendo cuidado de mantener la jeringa en posición vertical.
6. Con la jeringa en posición vertical, enrosque suavemente el émbolo hacia la derecha hasta que el flujo salga, no ejercer demasiada presión y por consiguiente, generar una extravasación por lo cual debe realizarse gradualmente.
7. Colocar hasta la longitud de trabajo y luego dar una vuelta completa al pistón, de modo que la pasta fluye en la cantidad deseada con movimientos de vaivén, buscando para llenar completamente el canal de la raíz.

Después de la obturación del conducto radicular, se observa un reflujo, coloque una torunda de papel absorbente estéril, y luego sellar cámara pulpar con cemento.



Lana et al. (2009) estudiaron la eficacia de pastas de hidróxido de calcio:

Calen® y Calen-PMCC® asociado con la preparación químico - mecánico, fue evaluada el *Enterococcus faecalis* cultivados en el interior en los conductos radiculares. Setenta incisivos fueron colocados en medio TSB, esterilizado y contaminada con *E. faecalis*. El medio de cultivo se reemplazó cada 24 horas y se incubó a 37 ° C durante 72 horas. Después de la preparación químico-mecánica, los conductos radiculares fueron rellenos con Calen® o Calen-PMCC® (7 o 14 días). Las pastas se retiraron y el dientes insertados en tubos de ensayo que contienen caldo con *Enterococcus*. La pasta Calen® indujo la eliminación del *Enterococcus* en 70% de los dientes mientras la pasta Calen-PMCC® indujo a la eliminación en 100% en dientes solamente después de mantenerlo por 14 días. Estos medicamentos fueron significativamente más efectivos ($P < 0,001$) que el protocolo de preparación químico-mecánico y el Calen-PMCC® mantenido por 7 días, donde ambos son incapaces de eliminar esta especie estudiada. La pasta de hidróxido de calcio demostró efectos importantes en la eliminación de estos microorganismos durante la preparación químico-mecánico de sistemas de endodoncias. Cuando se asocia con PMCC, las pastas de hidróxido de calcio deben mantenerse durante al menos 14 días.⁽⁶⁶⁾

2.3.6.2 Uso de Antibióticos

El uso de antibióticos en endodoncia se informó por primera vez en 1951 por Grossman, que se conoce como pasta polyantibiotic (CMSP). PBSC es una mezcla de penicilina, bacitracina, estreptomina y caprilato de sodio. La penicilina fue utilizada para dirigir contra organismos Gram-positivos, bacitracina para cepas resistentes a la penicilina, estreptomina para organismos Gram-negativos y caprilato de sodio a las levaduras diana.

Los antibióticos sólo se consideran como un complemento a la terapia quirúrgica o quirúrgico endodóntico. La eliminación de la etiología es el objetivo fundamental del tratamiento. Se recetan antibióticos principalmente para controlar las infecciones microbianas activas, no para prevenir la posibilidad de infecciones, a menos que el paciente se ve comprometido médicamente. En endodoncia, antibióticos sistémicos se prescriben para suprimir la infección en el espacio de la pulpa y o área periapical. Para que un antibiótico sistémico actúe sobre las bacterias tiene que ser llevado por la circulación de la sangre en el espacio de la pulpa y entrar en contacto directo con las bacterias. Por lo tanto en una pulpa infectada o necróticas debido a la falta de suministro de sangre, los antibióticos tópicos pueden ser eficaces en un espacio pulpar muy limitada y restringida ⁶⁹.

Recientemente se planteó que la pasta triantibiotica que contiene ciprofloxacina, metronidazol y minociclina se considere como concepto para la esterilización y la reparación de la lesión. El metronidazol es un compuesto de nitroimidazol que exhibe un amplio espectro de actividad contra protozoos y bacterias anaerobias. El metronidazol es selectivamente tóxico para los microorganismos anaerobios. Su grupo nitro se reduce en ciertas proteínas redox altamente reactivo radical nitro después de entrar en la célula. Se une al ADN, interrumpe la estructura helicoidal y conducir a la muerte celular rápida. La tetraciclina, que incluye la doxiciclina y la minociclina actúan sobre la

síntesis de proteínas, su acción es principalmente bacteriostático, inhibe mediante la unión a los ribosomas 30S en el organismo susceptible. Ellos exhiben amplio espectro de actividad contra microorganismos Gram-positivos y Gram. La minociclina es un derivado semisintético de la tetraciclina con un espectro similar de actividad antibacteriana. La ciprofloxacina es una fluoroquinolona sintético con una rápida acción bactericida. Se inhibe la ADN girasa bacteriana enzima, que afecta el ADN de doble hebra, introduce superenrollamiento negativo y luego vuelve a sellar el extremo afectado. La acción bactericida probablemente el resultado de la digestión del ADN por exonucleasas cuya producción es señalada por el ADN dañado. Se muestra una actividad muy potente contra bacterias Gram negativas pero una actividad muy limitada contra las bacterias Gram positivas La mayor parte de las bacterias anaeróbicas son resistentes a la ciprofloxacina. Por lo tanto, a menudo se combina con metronidazol en el tratamiento de infecciones mixtas ⁶⁹

Se estudió la eficacia de la pasta triple antibiótica: metronidazol, ciprofloxacina y minociclina frente a una dentina infectada con *Escherichia coli* in vitro, el mismo grupo investigador también estudio de la eficacia bactericida contra microbios de dentina cariada y pulpa infectada, hallaron que la mezcla de antibióticos era lo bastante potente como para erradicar las bacterias. Se ha descrito la eficacia clínica de la pasta triple antibiótica (3Mix-MP) en la desinfección de dientes inmaduros con periodontitis apical.

PASTA 3Mix-MP

Composición de 3Mix-MP

Según Hoshino et al ⁴

* Antibiótico (3Mix) - proporción 1:1:1

- Ciprofloxacina 200 mg, Metronidazol 500 mg, 100 mg de minociclina

* Vehículo (MP) - 1:1

- Ungüento Macrogol, Propilenglicol

3Mix se incorpora en MP utilizando la siguiente

- 01:05 (MP: 3Mix)

- 01:07 (mezcla estándar)

Según Takushige T et al ⁶

Los fármacos se pulverizan y se mezclan en una proporción de 01:03:03 (3 Mix) y se añaden ya sea con Macrogol - propilenglicol (3 Mix-MP) o como un sellador del canal (3 Mix-sellador).

Vehículo:

El vehículo ideal u óptimo para la administración de antibióticos en endodoncia debe tener capacidad para facilitar una mejor difusión del medicamento a través de los túbulos dentinarios y alteraciones anatómicas como aletas, istmos y conductos obliterados. Por lo tanto la difusión del antibiótico en el cemento y el tejido perirradicular puede ser ventajosa. Hoshino et al ¹ utiliza propilenglicol y Macrogol para la mezcla de la pasta de triple antibiótica. Cruz EV et al investigaron el efecto de la penetración de propilenglicol en la dentina radicular, el área y la profundidad de penetración de el colorante safranina en propilenglicol y se observó que fue significativamente mayor que el colorante con agua destilada en dentina radicular, la presencia de la capa de debris retrasó significativamente la penetración del colorante

en este estudio lo que indica la necesidad de su eliminación para una mejor difusión del medicamento ; la penetración de la mezcla de medicamentos se ha mejorado de manera eficiente a través del conducto preparado con irrigación ultrasónica. Por lo tanto el propilenglicol es un vehículo útil para la difusión de medicamentos:

En un estudio in vitro de la acción antimicrobiana de la ciprofloxacina, metronidazol, el glicol de polietileno y vehículos como Natrosol se evaluó su acción frente a 23 cepas. Se concluyó que la ciprofloxacina presentó acción antimicrobiana contra todas las cepas bacterianas probadas, y su asociación con metronidazol se informó como sinérgico. El vehículo polietilenglicol mostró efecto antimicrobiano y la ciprofloxacina / polietilenglicol era la combinación más eficaz para reducir las bacterias y levaduras. Por lo tanto la difusión de la droga con el vehículo ideal reduce las cargas bacterianas en el conducto radicular infectado.

Eficiencia Antibacteriana De La Pasta 3 Mix-Mp

Sato et al ¹ evaluó in vitro la eficacia antibacteriana de una mezcla de ciprofloxacina , metronidazol y minociclina (3Mix) , con y sin la adición de Rifampicina (100 g de cada uno / ml) (4Mix) , frente a las bacterias orales de dientes deciduos ,las combinaciones de antibióticos se observaron frente a lesiones cariosas y endodóntico . Hoshino et al determinó que necesitó 25 g/ml de cada uno: ciprofloxacina, la minociclina y metronidazol para ser eficaces en la esterilización de la dentina radicular infectado in vitro⁶⁹. Sato et al⁴ estudiaron la capacidad de una mezcla de ciprofloxacina , minociclina y metronidazol (0,5 mg de cada uno) en un estudio in vitro para eliminar la infección experimental en capas profundas de la dentina radicular por E. coli , en otro estudio in vitro se encontró que la combinación inhibitoria mínima para la ciprofloxacina y la minociclina contra E. faecalis y E. Faecium a ser 5 y 20 g, respectivamente, y se informó que el metronidazol no

tiene ningún efecto inhibitor ; sin embargo en combinación (100 microgramos cada uno/ml) inhibe el crecimiento de cada cepa completamente⁽⁶⁹⁾. Por lo tanto se sugiere que 3Mix puede ser eficaz en la infección persistente de endodoncia.

Windley et al⁹ en el 2005 evaluaron la eficacia de la pasta de triple antibiótico en la desinfección de los dientes del perro inmaduros con periodontitis apical. Las muestras se evaluaron antes y después de la irrigación con NaOCl al 1,25 % y después de colocar la mezcla de triple antibiótica, de las 30 muestras que se cultivaron antes del tratamiento, 90 % permaneció positivo después de lavado con 10 ml de NaOCl. Este nivel se redujo a 30 % después de la aplicación de la pasta de triple antibiótico en 2 semanas significando la eficiencia de la mezcla de triple antibiótico.

En quiste radicular como lesión que tiene comunicación directa con el sistema de conductos radiculares la pasta triantibiótica responde favorablemente al tratamiento de conducto no quirúrgico. Por lo tanto a partir de la literatura es evidente que la pasta de triantibiótica que se cambió cada mes hasta la eliminación de los síntomas facilitó la reparación del hueso periapical, además, el sistema de Endovac ha sido sugerido por ser más eficaz que la irrigación convencional con el uso de la pasta triantibiótica. Cohenca N et al evaluaron la eficacia in vivo de dos técnicas de desinfección del conducto radicular en dientes de perro inmaduros con periodontitis apical. Los microorganismos estaban ausentes en 88,6 % de los conductos radiculares tratados con el sistema de Endovac y pasta triantibiótica y 78,28 % de los conductos radiculares tratados con irrigación convencional y pasta triantibiótica. Así, siguiendo el protocolo de desinfección del conducto radicular efectivamente se reduce el tamaño de la lesión periapical y mejora el desarrollo de las raíces.

A pesar de que la pasta de triple antibiótico (triantibiótica ó 3Mix-MP) introducido inicialmente por Hoshino et al erradica las bacterias en el

conducto radicular, tenía una desventaja de causar problema estético que conduce a decoloración de los dientes. Kim et al ⁶⁹ 2010 identificó que la decoloración fue causado por la minociclina en un estudio in vitro. Ledermix un medicamento intracanal que contiene tetraciclina también se ha demostrado que causa una mayor decoloración en los dientes inmaduros que los dientes adultos. Alguna variación de la pasta antibiótica se han tratado de realizar para prevenir la decoloración, se considera como un suplente antibiótico la minociclina se usa o se omite (pasta biantibiótica); Trope et al ⁶⁹ sugiere que se use Arestín (minociclina HCL) se puede utilizar como sustituto de la minociclina para reducir marcadamente decoloración. Investigadores como Thompson A y B kahler han sustituidos con amoxicilina la minociclina en su informe del caso para evitar la decoloración.

Con respecto a la Reacción tisular a la pasta 3Mix-MP, JE Gomes-Filho et al⁴⁸ evaluaron la respuesta de 30 ratas que se colocaron implantes en el tejido subcutáneo de tubos de polietileno los cuales estaban rellenos de pasta triantibiótica y/o hidróxido de calcio y como control un tubo vacío, 30 ratas adicionalmente recibieron el implante de tubos de polietileno rellenos de Macrogol y propilenglicol, ambos materiales mostraron reacción de igual intensidad a los 7 y 15 días y estas reacciones eran similares en el control y la reducción de la intensidad a los 30 días , este estudio concluyo que ambas pastas la triantibiótica 3 Mix-MP y la de hidróxido de calcio eran biocompatibles.

CAPÍTULO III : METODOLOGÍA

3.1 Tipo y Diseño de investigación

Experimental, in vitro, prospectivo, longitudinal.

3.2 Unidad de Análisis

Conducto radicular de las piezas dentarias

3.3 Población de estudio

Estuvo constituida por 100 piezas dentarias que fueron extraídas a los pacientes que se atendieron en la Clínica de Cirugía de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.4 Tamaño de la muestra

La muestra estuvo conformada por 32 piezas dentarias uni o birradiculares, que fueron seleccionadas de la población de estudios, 22 piezas seccionadas mesiodistalmente y 10 piezas no seccionadas.

3.5 Selección de la muestra

Las muestras fueron seleccionadas al azar para la colocación de las pastas materia de la investigación

3.6 Técnicas de recolección de datos

En esta investigación se utilizaron las siguientes cepas bacterianas:

- ✓ *Porphyromona gingivalis* ATCC® 33277™* KWIK-STIK COD
MICROBIOLOGICS: 0912 (Pg)

- ✓ *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™* KWIK-STIK COD
MICROBIOLOGICS: 0363P (Ef)

- ✓ *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337™* KWIK-STIK COD
MICROBIOLOGICS: 0322P (Pa)

Cada una de las cepas se mantuvo en condiciones de refrigeración (2-8°C) desde el momento de su adquisición hasta su reactivación en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las cepas estuvieron contenidas en sus respectivos envases de kwi - stick™ luego se retiraron del envase y siguiendo las instrucciones del laboratorio, las cepas se reactivaron según las indicaciones dadas por el laboratorio Micro Biologics.

Reactivación De Cepas

Se reactivaron las cepas: *Porphyromona gingivalis* (Pg) (figura N°01), *Peptostreptococcus anaerobius* (Pa) (figura N°02), se incubaron en anaerobiosis a 37 °C y se observó por 7 días.

Enterococcus faecalis (Ef.) (figura N°03) se sembró en agar bilis esculina por un lapso de 24 horas a 37 °C



Figura N° 01. **Porphyromona Gingivalis**



Figura N° 02. **Peptostreptococcus Anaerobius**

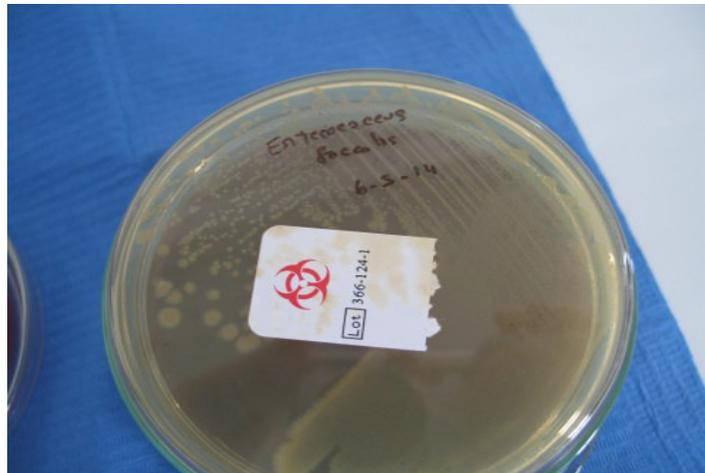


Figura N° 03. **Enterococcus Faecalis**

Preparación de las piezas

Se seleccionaron 32 piezas dentarias uni o birradiculares con un grado de curvatura moderada (figura N°04) y se tomaron las radiografías necesarias para confirmar la presencia de uno o dos conductos, seguidamente se realizó el tratamiento de conducto propiamente con equipo XSmart y con programación de torques para cada lima, primero se realizó una apertura cameral con fresa endo- access mediana # 2 que tiene un diámetro de 1.5mm y una parte activa de 10 mm con un largo de 21mm; hasta localizar la entrada de los conductos, se permeabilizó con un lima C- Pilot ISO # 10 se tomó como referencia el largo de la raíz a la cual se retiró 1mm y se consideró como medida de longitud de trabajo.

- Una vez observado el conducto se realizó la preparación biomecánica aplicando la técnica apico coronal: se inició utilizándose la lima flexicut N° 15 de 21 mm- 25mm (zipper .) que utilizó la longitud de trabajo previamente determinada e iniciamos la secuencia de tratamiento con un motor de endodoncia XSmart programado a la velocidad a 250rpm y un torque de 1.2 para la lima 10/.04 de Mtwo de 25mm en la que se trabajó con movimiento de cepillado en todo el conducto hasta la longitud de trabajo previamente establecida, se irrigó con hipoclorito de sodio (zonident) al 1% en una

jeringa de 10ml y se aplicó 5ml luego de cada cambio de instrumento; continuamos con la lima Mtwo 15/..05 hasta llegar finalmente la lima 40.04 aplicando siempre el torque que correspondía a cada lima, en este caso se uso un torque de 1.6 en toda la longitud de trabajo, se realizó una irrigación final de 3cc con Edta al 17% por 2 minutos para neutralizar la acción del hipoclorito y permeabilizar los túbulos dentinarios ,se secó con conos de papel N°40.04 y se usaron los conos de gutapercha Mtwo N° 40.04 que ingresaron en la medida preparada, se tomó radiografías de control (figura N°05), siendo este un indicador de la preparación efectiva del conducto.

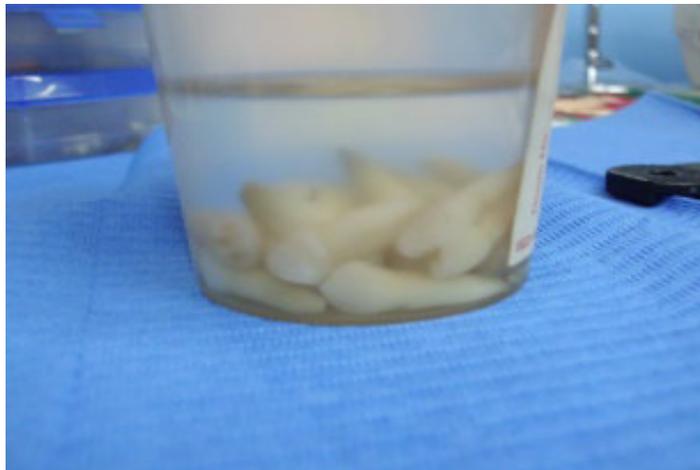


Figura N° 04. **Preparación de Muestras**



Figura N° 05 . **Radiografía de control**

Para el desarrollo de la investigación se dividió en dos fases: en la primera se utilizó 12 piezas dentarias seccionadas sentido mesiodistal a fin de tener mayor campo de acción de las sustancias en el conducto dentinario obteniendo así 24 muestras. En la segunda fase se trabajó con las 20 piezas restantes subdividiéndose en dos fases: 10 piezas dentarias seccionadas mesiodistalmente y 10 no seccionadas y aplicando a todas el mismo protocolo.

Todas las muestras fueron esterilizadas previamente en autoclave a 120°C por 30 minutos con cintas testigo 3M, una vez estériles se inició el proceso propiamente dicho.

Contaminación De Las Piezas

Se usó el caldo cerebro corazón vitaminado con Vit K (0.1 % de solución al 1%) (figura N°07), que es un medio de cultivo nutritivo que contiene infusión de cerebro, tejido de corazón y peptonas que proporciona proteínas y otros nutrientes necesarios para permitir el crecimiento de microorganismos que al contar con un medio altamente enriquecido es ideal para estos anaerobios.

Para lograr la concentración de la escala de Mac Farland de turbidez 1, se colocó en un tubo de ensayo de la cantidad requerida de cada cultivo y el control con 2ml



Figura N° 06. Caldo **de cultivo**



Figura N° 07. **Contaminación de las muestras**

Se pasó luego a un beaker con 24 muestras seccionadas longitudinalmente y previamente preparadas según protocolo y estériles, se realizó la incubación por 7 días en jarra de anaerobiosis (figura N°08) y en una estufa a 37 °C.



Figura N° 08. **Incubacion en anaerobiosis**

Comprobación de la contaminación de las piezas:

Se realizó el raspado de biofilm cada pieza contaminada (figura N°09) y se sembró los inóculos de las cepas de Pg., Pa en concentración de MF 1 en Agar Shaedler y de Ef. en TSA (figura N°10) y se incubaron por 7 días a 37°C en Anaerobiosis con anaerogen y se comprobó el crecimiento bacteriano en cada muestra.



Figura N° 09. **Raspado de biofilm**

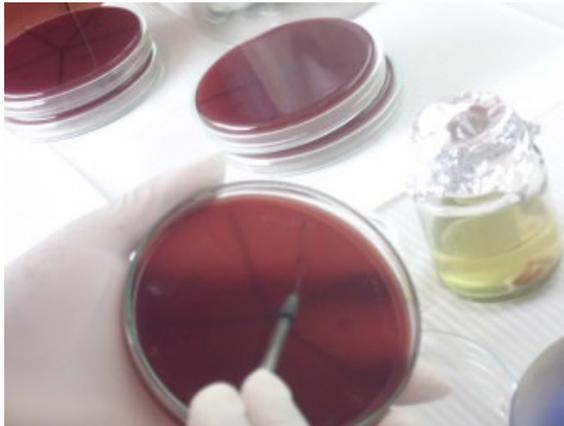


Figura N° 10. **Sembrado en agar**

Preparacion de los Productos Experimentales

- M1. Pasta multibiotica:3Mix-MP (figura N°11)
 - Polvo en proporción 1:1 de 1 tableta de Minocilina 100mg + 1 tableta de Metronidazol 500mg + 1 tableta de Ciprofloxacino 200mg
 - Liquido: Politilenglicol (macrogold): 1 cda + propilenglicol: 1 gta.

- M2. Pasta calen PMCC®. (figura N°12)
 - 1 cda de pasta de hidróxido de calcio + paramonoclofenol alcanforado

- M3. Pasta de hidróxido de calcio químicamente puro: 1 cda polvo + solución de agua destilada : 1 gota

- M4. Control: aceite de glicerina



Figura N° 11. **Pasta 3 Mix-MP**



Figura N° 12. **Pasta Calen PMCC®**

Prueba Experimental

Cultivo in vitro

1. Luego de confirmar la contaminación de las 12 piezas seccionadas mesiodistalmente se rasparon con una hoja de bisturí y con asa de henle se sembraron en 8 placas de Agar Shaedler luego se realizaron 4 pozos de 5 mm de diámetro donde se colocaron 50 ugL de medicamento M1 (3Mix-MP) en pozo número 1, M2 (Pasta Calen PMCC®) en pozo número 2 , M3 control

positivo (hidróxido de calcio) en el pozo número 3 y el control negativo M4 (aceite de glicerina) en el pozo número 4.

2. Las placas se mantuvieron en jarra de anaerobiosis (figura N°13) por 7 días, luego se realizaron las mediciones correspondientes de los halos de inhibición bacteriano expresado en milímetros de diámetro con una regla de Pie de Rey digital de precisión, tomándo en consideración los diámetros formados alrededor de cada sustancia evaluada colocándose los resultados en la tabla de recolección de datos.



Figura N°13. **Jarra de anaerobiosis**

Prueba experimental en piezas dentales

Para el desarrollo de esta segunda etapa se utilizaron las 20 piezas dentarias instrumentadas que se dividieron de la siguiente manera: fase dos: 10 piezas fueron seccionadas mesiodistalmente (20 muestras) y fase tres: 10 piezas no fueron seccionadas (10 muestras)

Contaminación de las piezas

- En la fases dos: todas las muestras fueron preparadas según protocolo antes descrito, se dividieron en 3 grupos para luego retirarlas con pinzavorta objetos de los Baker e inmediatamente se procedió a colocar con una lima K-Flex #· 25.02 dentro del conducto. las pastas medicadas: el grupo uno con

3Mix-MP, el grupo dos con Calen PMCC®, el grupo tres con el control positivo, luego del cual fueron colocadas en los beakers con suero fisiológico y en jarra de anaerobiosis y estufa, por un periodo de 7 días:

- Pasados 7 días utilizando una hoja de bisturí N° 14 se realizó el raspado de las superficies radiculares de las muestras seccionadas (fig.14) y se sembraron con una asa henle las muestras en el Agar Shaedler por 7 días en 6 placas subdividida en 6 partes cada una y mantenidas en la jarra de anaerobiosis de brewer.



Figura N° 14. **Obtención de muestras para siembra**

- En la fase tres: Se utilizaron las 10 piezas dentarias no seccionadas donde se realizó el mismo protocolo de tratamiento anterior y se formó al azar 3 grupos de 3 para colocar las pastas: grupo uno para 3Mix-MP, grupo dos para Calen PMCC®, grupo 3 control positivo con hidróxido de calcio y suero fisiológico, se utilizó una lima K-Flex # 25 de 21mm y se colocó el material dentro del conducto ingresando en sentido horario y se retiró en sentido antihorario pegándose a las paredes del conducto para poder dejar el medicamento dentro posteriormente se selló con cemento de policarboxilato el ingreso de la cámara y se colocó en Baker con suero fisiológico y se guardó por 7 días en jarra de anaerobiosis y estufa .

- Las muestras no seccionadas fueron abiertas con un explorador mono activo, que se usó para eliminar la capa de policarboxilato y luego de lavar con agua destilada se tomó la muestra con una lima k # 30 en toda la superficie del conducto radicular y tal como el paso anterior se sembró con un hisopo en un agar shaedler y se conservó en una jarra de anaerobiosis por 7 días para luego realizar la observación correspondiente
- Finalmente se procedió a la lectura de las siembras
- Para corroborar la precisión del estudio se usó la prueba de API 20E la que se realizó después de la obtención de un raspado a las muestras. API 20E es un sistema de identificación rápida para bacterias de la bacterias Gram(-). Básicamente consta de 21 test bioquímicos estandarizados y miniaturizados y una base de datos. Cada tira de API 20E contiene 20 micro tubos o pocillos con distintos sustratos deshidratados, cada tubo es una prueba bioquímica distinta.

Se llenó con las suspensiones trabajadas los tubos o pocillos (Figura N° 15) y luego se selló con parafina para generar anaerobiosis y se colocó dentro de su propia cámara que previamente se había humedecido con agua para mantener una atmosfera húmeda desde el inicio (Figura N°16) y se incubó a 37 °C durante 24 Hrs. y el resultado fue observado posteriormente.

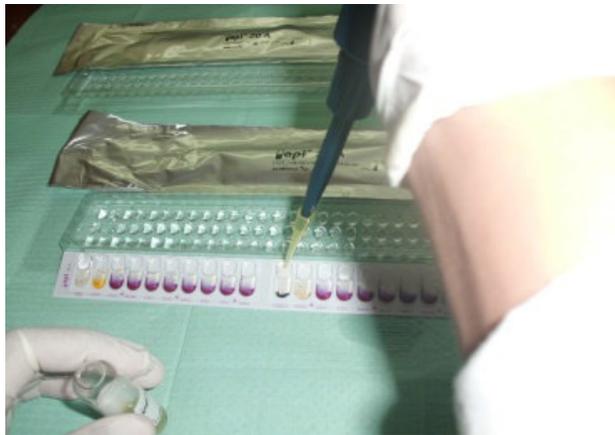




Figura N° 15. Prueba de API 20E

CAPÍTULO IV : RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Presentación de Resultados

La lectura se realizó midiendo los halos de inhibición con el vernier sobre el crecimiento de los microorganismos alrededor del disco. El diámetro de esta zona de inhibición fue directamente proporcional a la actividad antibacteriana de las pastas experimentales sobre los biofilms de *Porfiromona gingivalis*, *Peptostreptococcus anaerobios* y el *Enterococcus faecalis*.

Para interpretar los resultados se tomó como referencias las pautas de (DURAFFOURD y LAPRAZ, 1983)¹⁷ que considera la actividad de las pastas experimentales:

- ✓ Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm.
- ✓ Sensibilidad límite (sensible = +) de 9 a 14 mm.
- ✓ Sensibilidad media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm.
- ✓ Sumamente sensible (S.S. = +++) si fue igual o superior a 20 mm.

Cuadro N° 01

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
N° de placas	3 Mix-MP	Calen PMCC®	Control positivo Hidróxido de calcio USP + agua destilada	Control negativo Glicerina
1	39mm	6mm	21mm	6 mm
2	40mm	7mm	18mm	6mm
3	38mm	7mm	21mm	6mm
4	36mm	8mm	19mm	6mm
5	39mm	7mm	18mm	6mm
6	38mm	8mm	19mm	6mm
7	40mm	6mm	21mm	6mm
8	36mm	7mm	21mm	6mm

En el cuadro N° 01 se observa que la pasta 3 Mix-MP mostró halos de inhibición +++mayores a 20mm siendo considerado su efecto sumamente sensible, es decir su efecto inhibitorio fue mayor, tal como se aprecia en el grafico N° 01

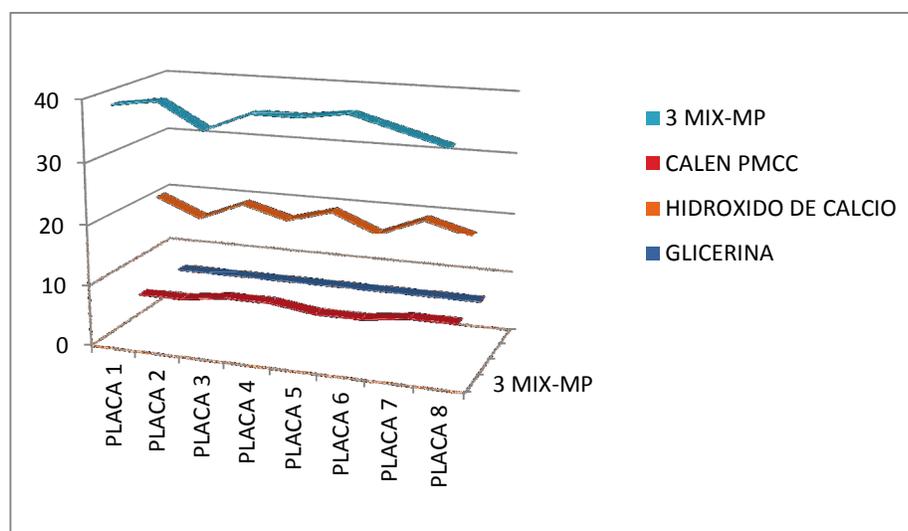
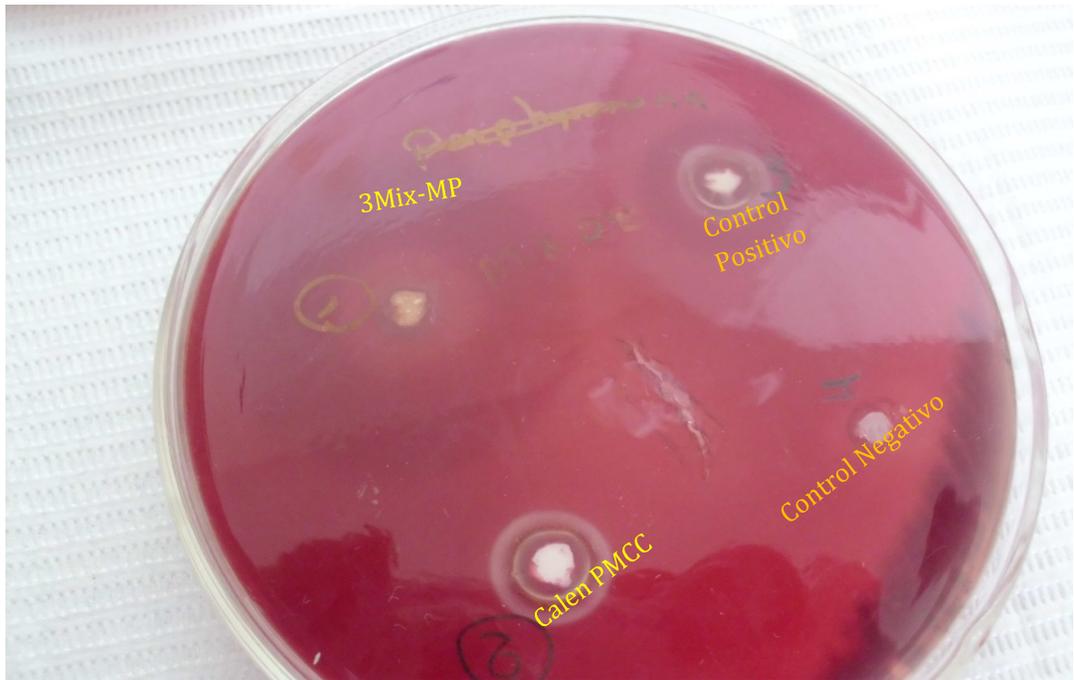
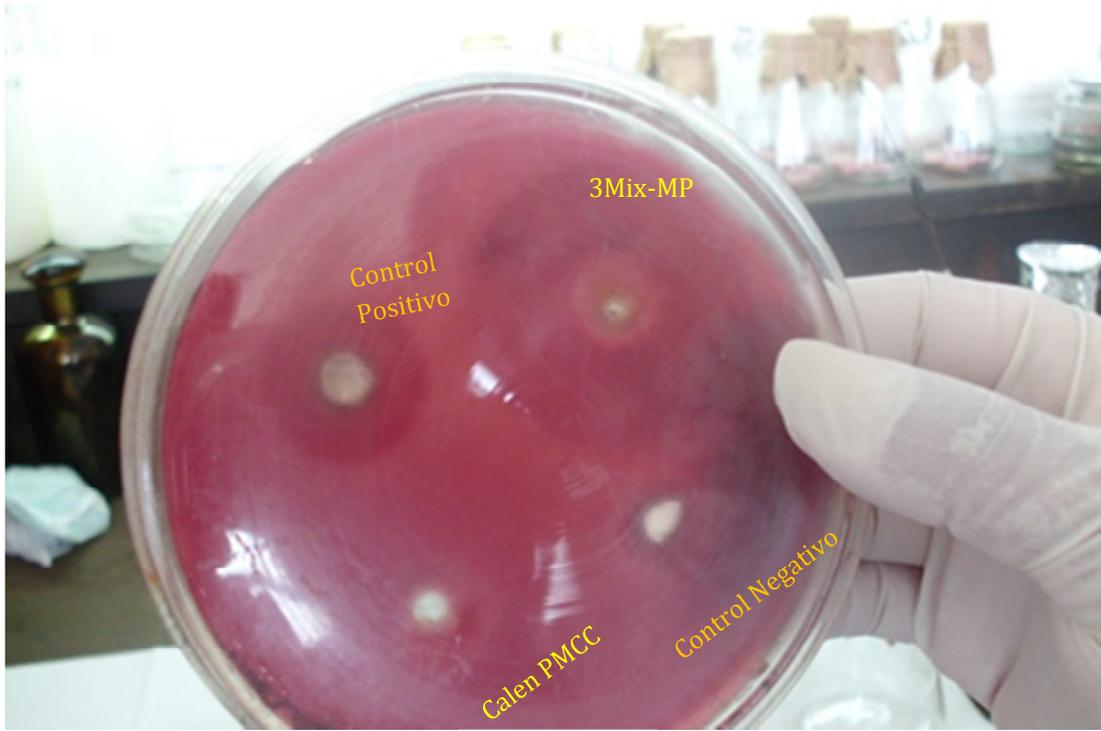


Grafico N° 01
Halos de Inhibición



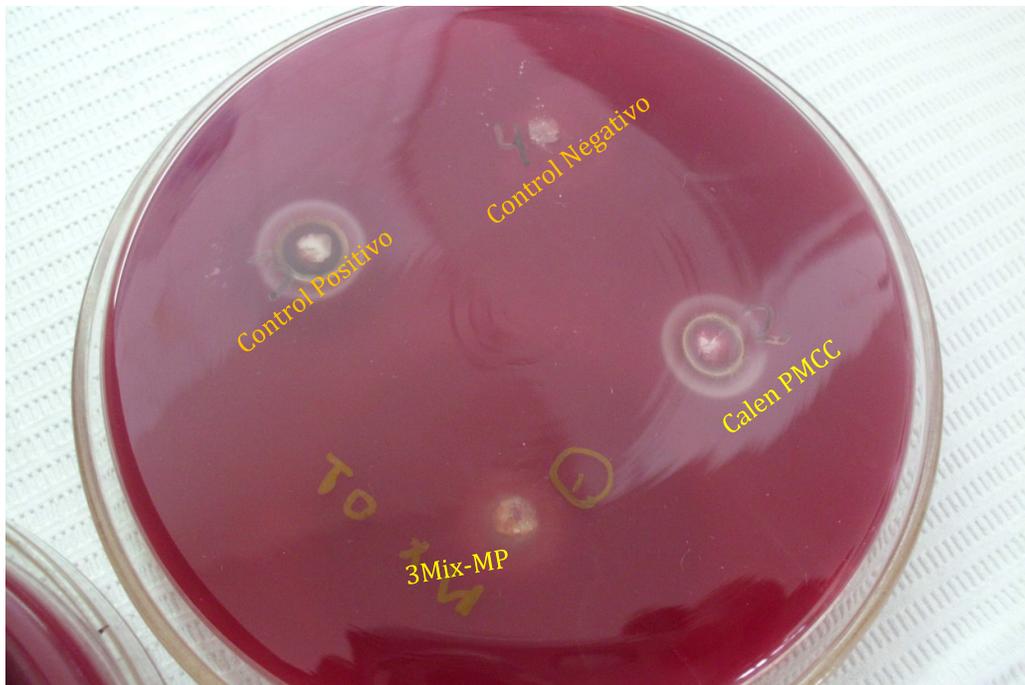
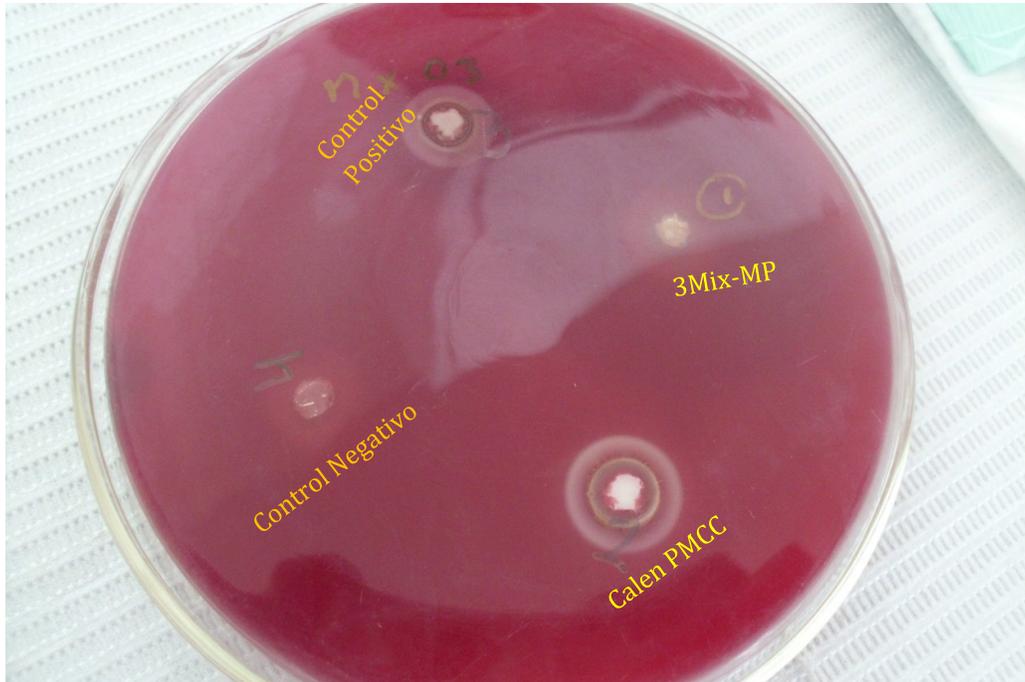


Figura N° 16. Halos de inhibición de 3Mix-MP y Calen PMCC®, control positivo y negativo

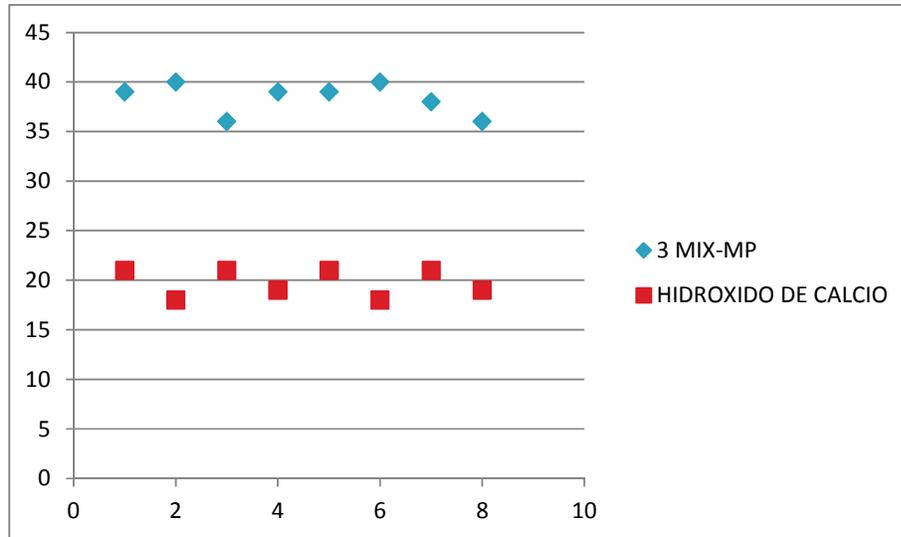


Gráfico N°02
Halos de inhibición de 3 Mix-MP versus control positivo

Se aprecia la relación entre la pasta de 3Mix - MP con el control positivo de hidróxido de calcio químicamente puro + agua destilada frente al biofilm de *Porfiromona Gingivalis*, *Peptostreptococcus Anaerobios* y el *Enterococcus Faecalis* y se observó que la pasta experimental 3Mix-MP presentó mayor efecto bactericida; se confirma en la formación de los halos de inhibición que median hasta 40mm comparados con el control que fueron hasta 21mm.

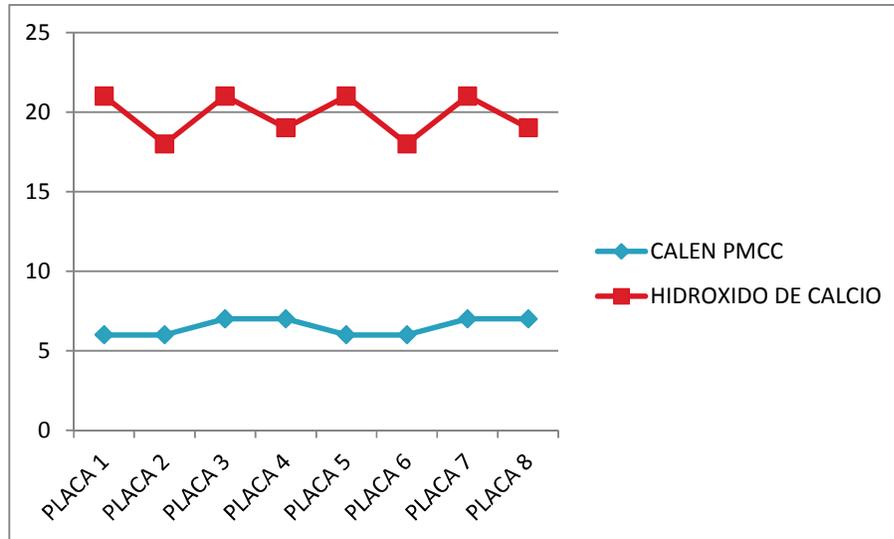


Gráfico N° 03

Halos de inhibición de Calen PMCC® y el control positivo

Se comparó el efecto entre la pasta de Calen PMCC® y el control positivo (hidróxido de calcio químicamente puro con agua destilada) frente al biofilm de *Porfiromona gingivalis*, *Peptostreptococcus anaerobios* y el *Enterococcus faecalis* y los resultados obtenidos muestran que el control positivo presenta mayor poder bactericida con halos de 21mm frente a la pasta Calen PMCC® que solo presentó halos de 6- 8 mm como valor máximo.

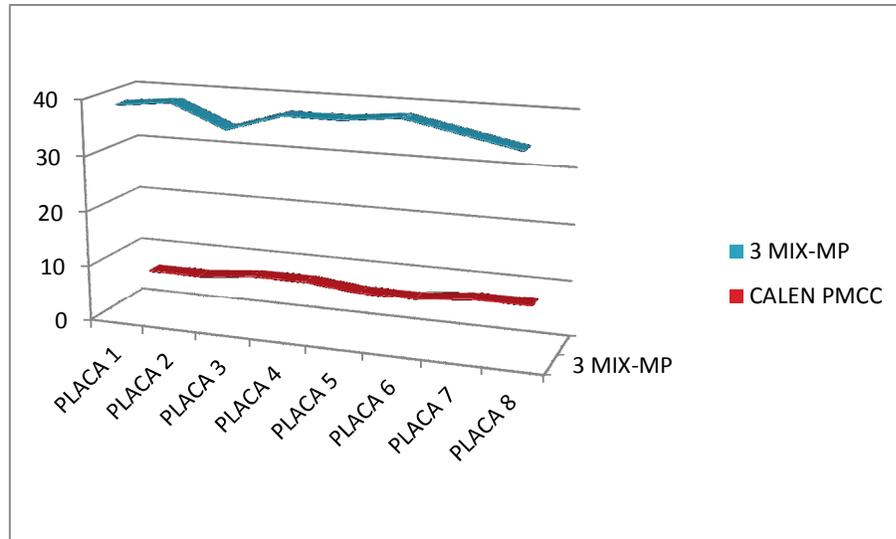


Gráfico N° 04

Halos de inhibición de 2 pastas: 3Mix-MP versus Calen PMCC®

Se observa la evaluación comparativa de la acción de las 2 muestras: pasta 3Mix-MP con Calen PMCC® (hidróxido de calcio + paramonoclorofenol alcanforado), se observa que la pasta que presenta mayor halo de inhibición y por lo tanto mayor efecto bactericida es la muestra 3Mix-MP, con respecto al Calen PMCC® que no mostró mayor crecimiento frente al biofilm de *Porfiromona gingivalis*, *Peptostreptococcus anaerobios* y el *Enterococcus faecalis*

Se utilizó la prueba estadística de U de Mann-Whitney para muestras relacionadas, comparándose los resultados de los rangos de la pasta 3Mix-MP con el control positivo (hidróxido de calcio con agua destilada) considerando que es una medicación utilizada por muchos años en endodoncia, con los siguientes resultados:

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
3Mix-MP	1,00	8	6,50	26,00
control positivo	2,00	8	2,50	10,00
	Total			

Estadísticos de contraste^a

U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-2,323
Sig. asintót. (bilateral)	,020
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,029 ^b

a. Variable de agrupación: VAR00004

b. No corregidos para los empates.

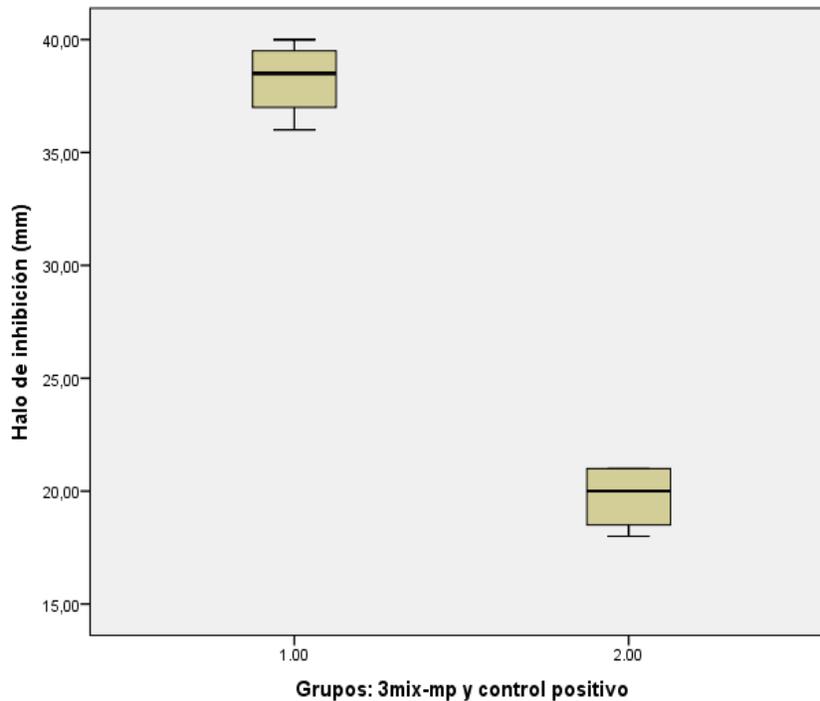


Gráfico N° 05
3Mix-MP y Grupo Control

Se puede observar en el gráfico bloxspot que hay una diferencia significativa entre 3Mix-MP y el control positivo que fue el hidróxido de calcio usp con agua destilada con un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$), se observa estadísticamente una gran dispersión de los datos que si bien el control positivo presentó acción antibacteriana en comparación con 3 Mix-MP, los resultados presentados en la formación de los halos de inhibición representan el mayor efecto bactericida de la pasta 3Mix-MP con halos de 40mm frente al grupo control de hidróxido de calcio químicamente puro con agua destilada que presenta halos de 21mm .

Se utilizó la prueba U de Mann-Whitney comparándose los resultados de los rangos de la pasta 3Mix-MP con la pasta Calen PMCC® obteniéndose los siguientes resultados:

Estadísticas de 3Mix-MP y Calen PMCC®

3 Mix-MP	Calen	N	Rango promedio	Suma de rangos
		8	6,50	26,00
		8	2,50	10,00
3mix-MP- Calen PMCC®				

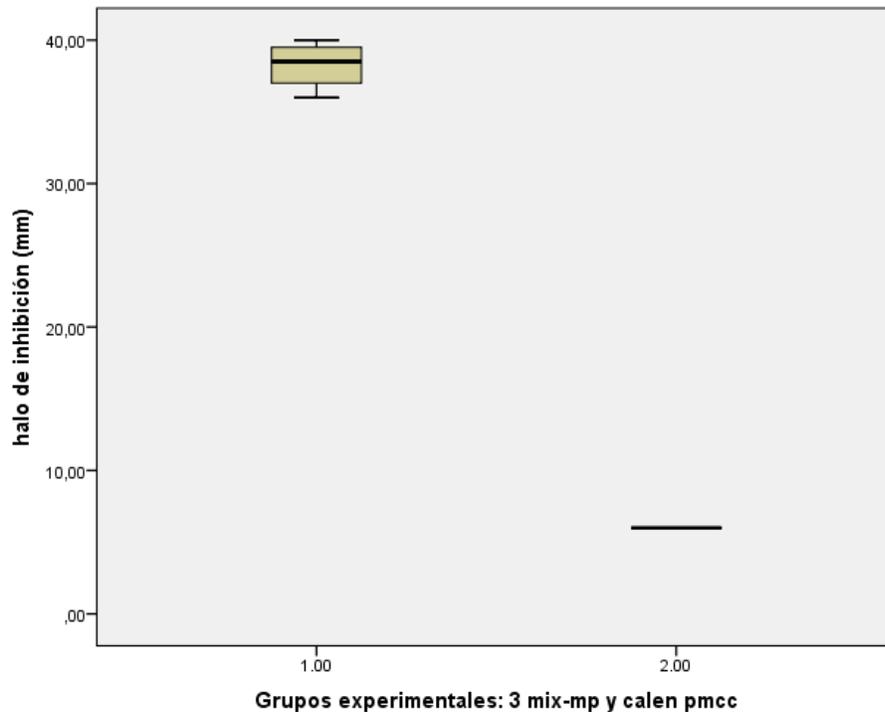


Gráfico N°06
3Mix-Mp y Calen PMCC®

Se observa la evaluación de la actividad antibacteriana de la pasta 3Mix-MP frente a la pasta Calen PMCC® en un biofilm de *Porfiromona gingivalis*, *Peptostreptococcus anaerobios* y el *Enterococcus faecalis*, el gráfico de bloxspot muestra que estadísticamente sí existe diferencia significativa para la pasta 3 Mix-MP frente a la pasta Calen PMCC® con un nivel de confianza 93.9% ($p < 0,05$), es decir estadísticamente se comprueba una gran dispersión de los datos por cuanto el rango es 6.5 para 3 Mix-MP y 2.5 para Calen PMCC®, por lo que se puede inferir que la *pasta Calen PMCC® en el tiempo evaluado* no presenta mayor acción antibacteriana, el resultado fueron halos de 6mm y 7mm y la pasta 3Mix-MP si presentó un mayor efecto antibacteriano con halos de 40 mm.

LECTURA DE CULTIVOS DE UFC

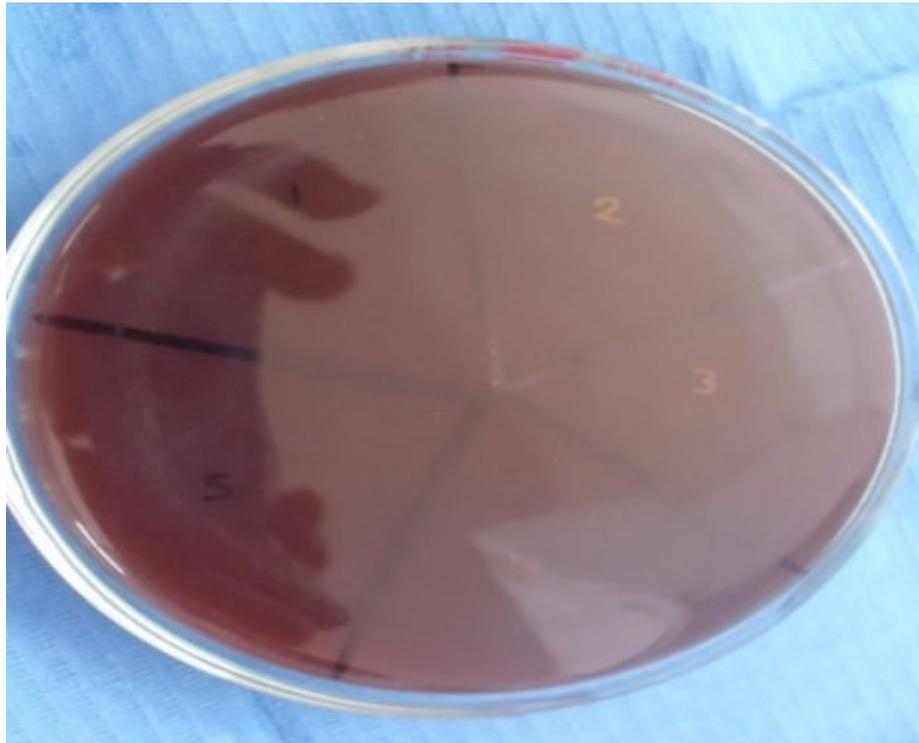


Figura N° 17. Lectura de cultivo de 3Mix-MP

En la evaluación microbiológica en la pasta 3Mix-MP no se observó crecimiento bacteriano alguno en ninguna de las 13 muestras sembradas, es decir no se pudo recuperar ninguna colonia lo que prueba su gran efecto antibacteriano sobre un biofilm de Periodontitis Apical Crónica

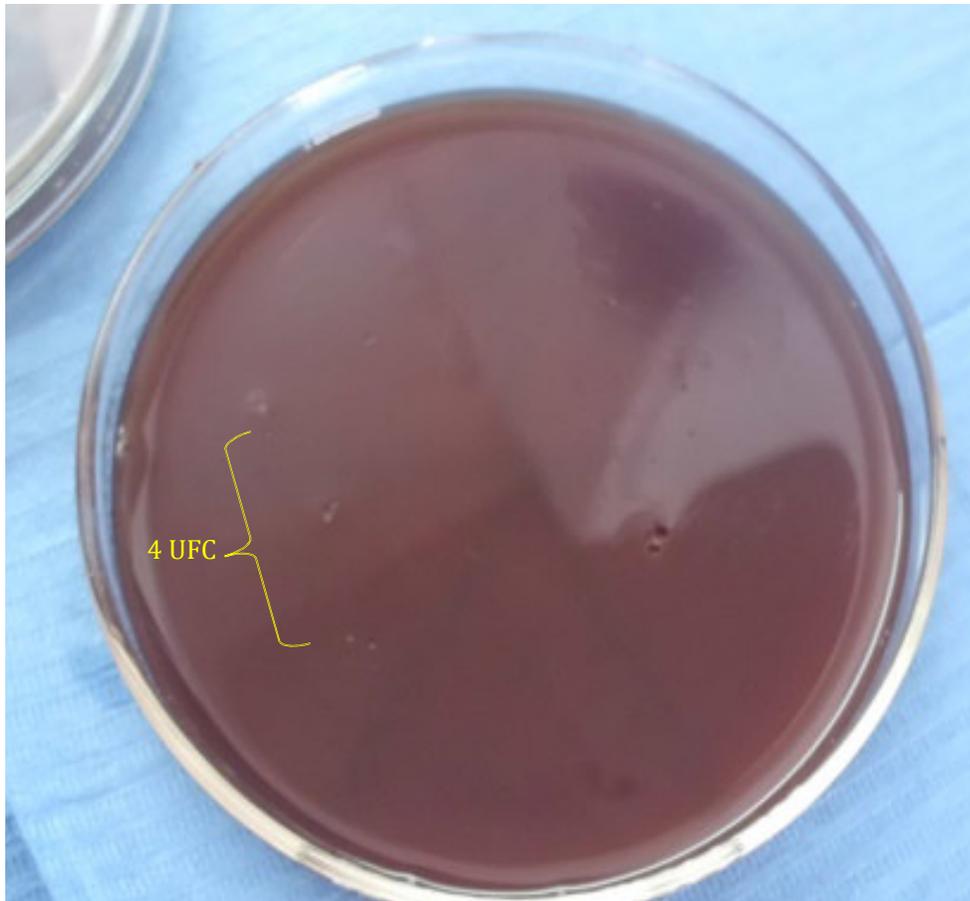


Figura N° 18. Lectura de Cultivo de Calen PMCC®

En la muestra de Calen PMCC® se observaron y recuperaron 04 ufc en 2 muestras de las 13 sembradas en 7 días de observación, valor que no se considera significativo estadísticamente.

Con respecto al control positivo se comprobó que sigue siendo considerado el medicamento intraconducto más reconocido y con gran efecto antibacteriano sobre ese biofilm, no se observó crecimiento bacteriano en las 13 muestras evaluadas en los 7 días; por lo que la significancia de evaluación es clínica y se fundamenta por los halos de inhibición presentados en todas las placas y las pruebas estadísticas aplicadas que probaron el nivel de significancia al 0.05 % se mostró significativo en la comparación con Calen PMCC®. que es una pasta de hidróxido de calcio pero con adición de paramonoclorofenol alcanforado .

4.2 Análisis, Interpretación y Discusión de los Resultados

En la presente investigación se planteó el objetivo general, que consistió en determinar el efecto antibacteriano de las pastas 3Mix-MP y Calen PMCC® en un biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica, se aplicó la técnica de Clegg et al ⁷⁰ que consiste en instrumentar el conducto radicular, eliminar el barro dentinario con Edta al 17% y esterilizarlo en autoclave para después contaminar las muestras con el biofilm preparado in vitro, metodología similares fueron realizados por varios investigadores como Hoshino et al ¹, Sato j ⁴ Hoshino E, Kurihara ⁵, Windley W ⁹, Ibrahim khalil ²⁴, se utilizaron también 2 métodos de medición del efecto antibacteriano dentro de los conductos radiculares tal como lo realizó Sato T, Hoshino E y et al, When Shium Tchaou² quienes también compararon la efectividad antibacteriana de las medicaciones intraconducto (pastas) como el hidróxido de calcio con agua destilada, paramonoclorofenol alcanforado con hidróxido de calcio, mezcla de antibióticos y otros, observándose resultados similares a las obtenidas en la investigación; también los resultados concuerdan con los obtenidos por Sato J, Kota K y Oshino en 1996 que evaluaron la penetración y la eficacia bactericida a través de periodos de observación y mediante varios procedimientos (recuento de bacterias y medición de zonas de inhibición), de tal manera que al final no se recuperó ninguna bacteria de la dentina radicular, excepto en un caso en el cual se recuperaron unas pocas bacterias, Determinándose así el efecto antibacteriano de la pasta 3 Mix-MP, resultados que concuerdan totalmente con los valores obtenidos en la presente investigación y relacionado con el objetivo planteado.

Con referencia a determinar el efecto antibacteriano de la pasta 3Mix-MP en un Biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica, los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con los obtenidos por Hoshino E¹ Sato T⁴ en 1996, donde los halos de inhibición con respecto a la pasta 3 Mix-MP fueron sumamente sensibles el 100%, por cuanto presentaron halos de inhibición de 40mm. de promedio en todas las placas observadas, seguidas por el hidróxido de calcio con agua destilada que presentaron una sensibilidad media el 50%, sabemos que el hidróxido de calcio es el

medicamento más usado, (por eso en esta investigación se utilizó como control positivo) lo que se debe principalmente a su alto PH alcalino y acción antibacteriana que coincide con lo investigado por Jiménez A¹³ en el 2005, Soledad Rodríguez¹⁴, Talero J en 2007 quienes observaron el poder bactericida en terapia de conductos.

Con respecto a determinar el efecto antibacteriano de la asociación hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado (Calen PMCC®) en un Biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica, se observa que los resultados obtenidos difirieren con los resultados logrados por Halim Nagem quien en 2007 al observar el poder antimicrobiano del paramonoclorofenol alcanforado y el Calen PMCC® mostró que ambos eran irritantes y que además tenían poder antimicrobiano, en la presente investigación se encontró que la asociación de hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado (Calen PMCC®) en 7 días no mostró mayor efecto antibacteriano comparado con el hidróxido de calcio con agua destilada, casi el 100% mostró nula sensibilidad antimicrobiana que también difiere con Patricia Elaine Panicali L⁷¹ quien comparó su efecto con enterococo faecalis en mayor tiempo 14 días, observando que sí fue efectivo, pero confirmó los resultados obtenidos en esta investigación : en 7 días donde la sensibilidad fue nula con halos de inhibición de 8mm². Resultados que concuerdan con los encontrados en la presente investigación que presentaron halos de 6 a 7mm² en 100%.

Referente a comparar el efecto antibacteriano de la pasta 3Mix-MP y el hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado (Calen PMCC®) en un Biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica , En la presente investigación se observó que los resultados obtenidos fueron al 100% de eliminación de bacterias y el control positivo también mostró resultados similares a los obtenidos por Sato J⁴ Hoshino E⁵ Windley W⁸ Sato T¹, quienes también obtuvieron cultivos libres de bacterias y en lo que respecta al Calen PMCC® se recuperó 4 ufc en dos muestras en 7 días, pero que no es estadísticamente significativa en relación a toda la muestra; por lo que se concluye que los resultados de la investigación está de acuerdo con los

resultados obtenidos por investigadores como Hoshino E⁴, Sato T¹, Takugushige T⁶, Wen Shium Tchaou², quienes afirman que la aplicación de la pasta 3 Mix-MP eliminaba todas las bacterias presentes y no se pudo recuperar ninguna, similar a los resultados de Sato J⁴, Hoshino E⁵, Windley W⁸, Sato T¹, quienes también obtuvieron cultivos libres de bacterias y además con el estudio en el año 2005 de Hoshino¹⁰ que evaluó además el efecto de la pasta 3Mix-MP sobre el Enterococo Faecalis y concluyó que inhibe su crecimiento totalmente, resultados que concuerdan con los obtenidos en esta investigación, que mostró en todas las muestras evaluadas el nivel de crecimiento bacteriano con 3 Mix-MP fue de 0% lo que comprueba su mayor actividad antibacteriana como medicación intraconducto comparado con el Calen PMCC® de la cual hay pocos estudios de investigación.

4.3 Pruebas de Hipotesis

✓ La Hipótesis Operacional:

“La pasta 3 Mix-MP tiene mayor efecto antibacteriano que la pasta Calen PMCC® en las bacterias más predominantes en Biofilm de una Periodontitis apical crónica”

✓ Hipótesis Nula:

“La pasta 3 Mix-MP no tiene mayor efecto antibacteriano que la pasta Calen PMCC® en las bacterias más predominantes en Biofilm de una Periodontitis apical crónica”

El procesamiento y análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó usando el programa SPSS versión 19. Las pruebas se trabajaron a un nivel de significancia de 5% ($p < 0.005$)

Se aplicó la prueba no paramétrica de U de Mann –Whitney por que es útil cuando las mediciones se pueden ordenar en escala ordinal es decir cuando los valores tienden a una variable continua pero no tienen una distribución normal y resulta aplicable cuando las muestras son independientes.

Puebas Estadísticas

Realizando la operacionalización de las hipótesis se observa que la hipótesis nula es rechazada aplicando a dos muestras independientes donde las variables 3Mix-MP y Calen PMCC® fueron evaluadas según sus valores.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Interval. confianza
3Mix-MP	8	36,00	40,00	38,2500	1,58114	95%
Hidroxido de Calcio	8	18,00	21,00	19,7500	1,38873	
Calen PMCC®	8	6,00	8,00	6,5000	,53452	
Glicerina	8	6,00	6,00	6,5000	,53452	
N válido	8					

Prueba U de Mann-Whitney

Rangos

	N	Rango promedio	Suma de rangos
3Mix-MP-	8	6,50	26,00
Calen PMCC®	8	2,50	10,00
Total	8		

Estadísticos de contraste^a

	VAR00005
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	10,000
Z	-2,460
Sig. asintót. (bilateral)	,014
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,029 ^b

a. Variable de agrupación: VAR00004

b. No corregidos para los empates.

Con respecto a la prueba de hipótesis se utilizó la prueba no paramétrica de U de Mann - Whitney y se validó la hipótesis operacional donde la pasta 3Mix-MP tiene mayor efecto antibacteriano, según los cuadros estadísticos se comprueba con respecto a la pasta Calen PMCC® en un biofilm de *Porfiromona gingivalis*, *Peptostreptococcus anaerobios* y el *Enterococcus faecalis* y se observa mejor en el gráfico 1 de bloxspot que estadísticamente si existe diferencia significativa para la pasta 3 Mix-MP frente al hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado (Calen PMCC ®); con un nivel de confianza 95% ($p < 0,05$) que testimonia estadísticamente que se puede observar una gran dispersión de los datos por cuanto el rango es 6.5 para 3 Mix-MP y 2.5 para Calen PMCC®, por lo que se observa que la *pasta Calen PMCC®* no presenta mayor acción en el tiempo observado de 7 días, pues el resultado permite observar que fueron halos de 6mm y 7mm y la pasta 3Mix-MP si presentó mayor efecto bacteriano con halos de 40 mm.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Conclusión General

Al determinar el efecto antibacteriano de las pastas 3Mix-MP y Calen PMCC® Se concluye que la asociación 3Mix-MP: minociclina, metronidazol, ciprofloxacina con polietilenglicol y propilenglicol: pasta 3Mix-MP demostró tener mayor efecto antibacteriano sobre un Biofilm de tres bacterias predominantes de periodontitis apical crónica.

Conclusiones Específicas

- A. Se comprobó que la pasta 3Mix-MP presentó mayor efecto antibacteriano sobre un biofilm de periodontitis apical crónica, porque mostró halos de inhibición bacteriana de 39mm y 40mm, a su vez en la lectura del recuento de unidades formadoras de colonias se observó que no hubo en ninguna muestra.

- B. La asociación hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado (Calen PMCC®) no mostró actividad antibacteriana medible sobre el biofilm formado y con respecto a la evaluación microbiológica se encontraron ufc: 4 colonias en las muestra evaluadas.

C. En la comparación del efecto antibacteriano se concluye que la pasta 3Mix-MP presentó un 100% de efectividad en la eliminación microbiana del biofilm de las paredes del conducto y la medición de sus halos de inhibición que fueron de 40 mm en comparación con Calen PMCC®, lo que indicó gran actividad antibacteriana en un biofilm de periodontitis apical crónica.

5.2 RECOMENDACIONES

Recomendación General

Con respecto a la determinación del efecto antibacteriano de la pasta 3Mix-MP y Calen PMCC® sobre un biofilm de tres bacterias predominantes en Periodontitis apical crónica, se recomienda tomar en cuenta estos resultados para priorizar la selección del medicamento indicado en lesiones endodónticas complejas con gran radiolucidez periapical, obteniéndose una mayor efectividad en los tratamientos endodónticos complejos y en tratamientos de segunda intención no quirúrgico.

Recomendaciones Específicas

- A. Con respecto a establecer el efecto antibacteriano de la pasta 3Mix-MP en un Biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica, se recomienda tomar en cuenta estos resultados, para mejorar los procedimientos clínicos en pacientes con lesiones endodónticas complejas, lográndose reducir el tiempo del tratamiento y mejora en el pronóstico.

- B. Con respecto a determinar el efecto antibacteriano de la pasta Calen PMCC® en un Biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica, se recomienda tomar en cuenta estos resultados, para que no sea utilizado en casos clínicos de gran complejidad, por que demandaría mayor tiempo en el tratamiento endodóntico.

C. Al comparar el efecto antibacteriano de la pasta 3Mix-MP y la pasta Calen PMCC® en un Biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica, se recomienda tomar en cuenta estos resultados, para que sea usado en la mayoría de tratamientos con lesiones periapicales amplias, retratamientos, logrando un mejor tratamiento endodóntico y por ende una mejor calidad de vida del paciente.

Se recomienda realizar estudios in vitro con ayuda del microscopio de fluorescencia y microscopio electrónico de barrido con un biofilm más complejo que abarque una mayor cantidad de cepas bacterianas predominantes en periodontitis apical crónica y así evaluar el efecto antimicrobiano con mayor precisión para lograr tratamientos más exitosos

Se recomienda que la pasta 3Mix-MP al tener mayor efecto antibacteriano se deberían realizar estudios en pacientes con retratamientos y lesiones periapicales amplias, aplicándolo como medicación intraconducto en casos complejos y evaluar clínica y radiográficamente por un lapso mayor, con la finalidad de lograr la total esterilización del conducto y el éxito del tratamiento endodóntico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sato T. et. al. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs on bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. *Oral Microbiol Immunol*, 1993 junio; 8 (3): 172-176.
2. Tchou Wen – Shiun et al. In vitro inhibition of bacteria from root canals of primary teeth by various dental materials. *Pediatric dentistry*, vol. 17, N° 5, 1995.
3. Flores Abuxapqui, J., et al. Efecto Antibacteriano Del Hidróxido De Calcio En Los Conductos Radiculares Con Pulpa Infectada. *Revista ADM*. Jul-Ago 1995; LII(4):211-214
4. Sato Ikuko et al. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazol and minocycline in situ. *International Endodontic Journal*, vol 29, N° 2, p. 118 -124, 1996
5. Hoshino E. et al. In vitro antimicrobial susceptibility o bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazol and minocycline. *International Endodontic Journal*, vol. 29, N° 2, p. 125 -130, 1996.

6. T. Takushige, E. Hoshino. Clinical Evaluation of LSTR 3Mix-MP Therapy for perforated Roots. Niigata Univ. Niigata. Japón. 2001. [http:// iadr.confex.com/iadr/2001chiba/scheduler/schedulerpaper.cgi?abstract=4345](http://iadr.confex.com/iadr/2001chiba/scheduler/schedulerpaper.cgi?abstract=4345)
7. Cruz E.V. et al. Penetration of Propylene glycol into dentine. International Endodontic Journal, vol. 34, N° 4, p. 330, 2002.
8. Takushige T. et al. Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. International Endodontic Journal, N°37, p. 132 – 138, 2004.
9. Windley, W. et al. Desinfection of Immature Teeth with a Triple Antibiotic paste. Journal of Endodontics, vol. 31, N° 6, p. 439-443, 2005.
10. Hoshino E. et. al. Susceptibility of Enterococcus faecalis to a Combination of Antibacterial Drugs (3Mix) in Vitro. J. Oral Biosci, vol 47, N° 4, p. 315 – 320, 2005.
11. Hoshino E. et al. Oral Health program Using LSTR 3Mix-MP NIET Therapy.2005. http://iadr.confex.com/iadr/2006Orld/techprogram/abstract_73714.htm.
12. Nakahara H. et. al. Clinical Evaluation of LSTR 3Mix-MP Endodontic Treatment. Niigata University, Japón, 2005. http://iadr.confex.com/iadr/2005Balt/techprogram/abstract_60499.htm.
13. Jiménez Andrea, Pulido Elizabeth, Bases Biológicas Del Hidróxido De Calcio Con Respecto A Su Acción Antimicrobiana Y Neoformación De Tejido. Disponible en: <http://encolombia.com/odontologia/foc/foc64dic-Basesbiologicas1.Htm> (Consultado El 21 De Septiembre Del 2010)
14. Rodríguez Benitez Soledad. Importancia Del Hidróxido De Calcio Como Medicamento Intraconducto En Endodoncia .A Propósito De Un Caso Clínico. Gaceta Dental; Industria y Profesionales N°160, 2005, pag 44-52. Disponible en dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1182797 – consultado el 22 de enero 2010

15. Silva Herzog Flores, D., et al. Comparación Del Hidróxido De Calcio Como Medicamento Intraconducto. Rev ADM ene-feb 2003;60(1):14-18
16. Ferro Benítez, Pedro, et al. Tratamiento No Quirúrgico De Lesiones Periapicales. Rev Cubana Estomatología, May- ago 2005;42 (2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75072005000200008&script=sci_arttext (Consultado el 21 de Septiembre del 2007)
17. Takushige T. et. al. Clinical Evaluation of Endodontic Re- Treatment Using Lstr 3 Mix – Mp. Niigata University. Japón, 2007. http://iadr.confex.com/iadr/2007orleans/techprogram/abstract_91540.htm.
18. Talero Mesa, Jaime Alberto, Poder Bactericida Del Hidróxido De Calcio En La Terapia Del Conducto Radicular. Disponible en: http://www.boyaca.homestead.com/files/articulo_poder_del_ca_oh_2.htm (Consultado el 11 de Octubre del 2007)
19. Halim Nagem Filho, Haline Drumond Nagem , Kennedy Queiroz Coutinho, Paulo Roberto Marão de Andrade Carvalho , Properties Of Camphorated Paramonochlorophenol And Camphorated Paramonochlorophenol Associated To Calcium Hydroxide. Bras Odontoped Clin Integr, João Pessoa, 7(3):235-239, set/dez. 2007
20. IL-YOUNG Jung, Seung-Jong Lee, Kenneth M. Hargreaves, Biologically Based Treatment of Immature Permanent Teeth With Pulpal Necrosis: A Case Serie. Journal of Endodontics. Julio 2008.Vol. 34, Issue 7, Pages 8768
21. Toyohiko Takushige, Edward Venzon Cruz. Ali Asgor Moral, Etsuro Hoshino. Non-surgical treatment of pulpitis, including those with history of spontaneous pain, using a combination of antibacterial drugs .Journal of LSTR Therapy (International WEB version) VOL 7: 1-5, 2008.

22. Takushige T., Hataoka H, Ando M. Hoshino E. Endodontic Retreatment using 3Mix-MP without Removal of Previous Root Canal Obturation Journal of LSTR Therapy (International WEB version) VOL 8: 3-7, 2009.
23. Juni Handajani, Tetiana Haniastuti, Hayato Ohshima, Etsuro Hoshino. Survival of Root Canal Pulp Tissue after Pulpitis Journal of LSTR Therapy (International WEB version) VOL 9: 1-6, 2010.
24. Ibrahim Khalil. K.M. Mohidul Islam, Zahid Hossain, Arup Kumar Shah Akashlynn Badruddoza, Ali Asgor Moral. Lesion Sterilization and Tissue Repair (LSTR)-3mix MP Therapy showed Reliable Efficacy against the Most Resistant Endodontic Bacteria *Enterococcus faecalis*. City Dental College J. Volume - 9, Number-2, July-2012
25. Simon J. "Patología periapical" en: Cohen S., Burns R. Vías de la pulpa. Editorial Harcourt España, S.A. 7ma Edición. Capítulo 11. 1999
26. Kakehashi S., Stanley H. R., Fitzgerald R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics. 1965; 20: 340-349.)
27. Stashenko P. "Etiology and pathogenesis of pulpitis and apical periodontitis" en: Pitt Ford T.R., Orstavik D. Essential endodontology. Editorial Blackwell Science Ltd. Capítulo 3. 1998
28. Pumarola J, Canalda C. "Etiopatogenia de la enfermedad pulpar y periapical" en: Canalda C, Brau E. Endodoncia. Editorial Masson. Capítulo 5. 2001.
29. Llamas R, Jiménez A, Caballero F, Chaparro A. Patogenia de la periodontitis apical. Revista Española de Endodoncia. 1989; 7: 19-23.
30. Tatiana Aguilar Heredia. Aspectos Microbiológicos de la Periodontitis Apical Crónica Persistente. Web site www.carlosbobeda.com .Agosto 2004

31. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1998; 31(1):1-7.
32. Nair P, Sjogren U, Krey G, Kahnberg K, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod*. 1990; 16(12): 580-8.
33. Siqueira J. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 2001; 34: 1-10.
34. Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1997;30(5):297-306
35. Siqueira J. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(3):281-93
36. Ray H, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J*. 1995; 28(1):12-8.
37. Saunders W, Saunders E. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol*. 1994; 10(3):105-8.
38. Sociedad Europea de Endodontología. Consensus report of the European Society of Endodontology on quality guidelines for endodontic treatment. *Int Endod J* 1994; 27(3):115-24
39. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Sousa E, Teixeira F, Souza-Filho F. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*. 2003; 36(1):1-11.
40. Huuonen S, Orstavik D. Radiological aspects of apical periodontitis. *Endod Topics* 2002;1:3-25

41. Andreasen J, Rud J. Correlation between histology and radiography in the assessment of healing after endodontic surgery. *Int J Oral Surg.* 1972; 1(3): 161-73.
42. Pitt Ford T. The effects on the periapical tissues of bacterial contamination of the filled root canal. *Int Endod J.* 1982;15(1): 16-22
43. Chavez De Paz L, Dahlen G, Molander A, Moller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J.* 2003; 36(7):500-8.
44. Cheung G, Ho M. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2001;16(6):332-7.
45. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998; 31(1):1-7.
46. Cheung G, Ho M. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2001; 16(6):332-7.
47. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Sousa E, Teixeira F, Souza-Filho F. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J.* 2003; 36(1):1-11.
48. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Souza Filho F. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(2):100-3.
49. Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participacion de biopelículas bacterianas en la periodontitis periapical refractaria y crónica. *Endodoncia* 2003; 21(1):50-56.
50. Costerton J, Stewart P, Greenberg E. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999 May 21; 284(5418):1318-22.

51. Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6(2):73-7.
52. Siqueira J Jr, Lopes H. Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J.* 2001; 34(3):216-20.
53. Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participación de biopelículas bacterianas en la periodontitis periapical refractaria y crónica. *Endodoncia* 2003; 21(1):50-56.
54. Viviani, MJ. Patología periapical. Estructura del Biofilm. *Electronic journals of Endodontics Rosario. Año 7. Vol 01. Abril 2008*
55. Donlan Rodney M. Controlling clinically relevant biofilms using bacteriophages. Web Site www.BiofilmsOnline.com. *Biofilm Perspectives* 2006 April; No. 2006:02.
56. Gonçalves Juan. Relevancia y participación de las biopelículas microbianas en las infecciones endodónticas. Web site www.carlosboveda.com 2007 Junio.
57. Burleson Aaron, Nusstein John, Beck Mike. The In Vivo Evaluation of Hand/Rotary/Ultrasound Instrumentation in Necrotic, Human Mandibular Molars. *J Endod.* 2007 July; 33(7):782-787.
58. Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol* 1994; 176: 2137-42.
59. F. Sirvent Encinas, E. Garcia Barbero. Biofilm un nuevo concepto en endodoncia. *ENDODONCIA • Volumen 28 • Numero 4 • Octubre-Diciembre 2010*
60. Ricucci D, Siqueira JF Jr, Bate AL, Pitt Ford TR. Histologic investigation of root canal-treated teeth with apical periodontitis: a retrospective study from twenty-four patients. *J Endod* 2009; 35: 493-502

61. Siqueira JF Jr, Rocas IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107:870-8
62. Leonardo MR, Rossi MA, Silva LA, Ito IY, Bonifacio KC. EM evaluation of bacterial biofilm and microorganisms on the apical external root surface of human teeth. *J Endod* 2002;28: 815-8
63. Chavez de Paz LE, Bergenholtz G, Dahlen G, Svensater G. Response to alkaline stress by root canal bacteria in biofilms. *Int Endod J* 2007; 40: 344-55
64. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:49-79
65. Siqueira JF Jr, Rocas IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107:870-8.
66. F. Sirvent Encina, E. Garcia Barbero. Biofilm. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia. *ENDODONCIA • Volumen 28 • Numero 4 • Octubre-Diciembre 2010.*
67. Chavez de Paz LC. Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *J Endod* 2007; 33: 652-62.
68. Baumgartner J.C, Siqueira J.F, Sedgley C.M, Kishen A. Microbiology of endodontic disease in Ingle's *Endodontics*. Chapter 7. 6th ed. John I Ingle 2008:221-308.
69. Varalakshmi R Parasuraman, Banker Sharadchandra Muljibhai. 3Mix- MP in Endodontics – An overview. *Journal of Dental and Medical Sciences (JDMS) ISSN: 2279-0853, ISBN: 2279-0861. Volume 3, Issue 1 (Nov.- Dec. 2012), PP 36-45 .*

70. Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentine biofilms *in vitro*. J Endod 2006; 32: 434-7.
71. Patricia Elaine Panicali Lana, Miriam Fatima Zaccaro Scelza, Licínio, Esmeraldo Silva, Ana Luíza De Mattos-Guaraldi, Raphael Hirata Júnior. Antimicrobial Activity of Calcium Hydroxide Pastes on Enterococcus faecalis Cultivated in Root Canal Systems. Braz Dent J (2009) 20(1): 32-36.
72. Walton, R, Torabinejad, M. Principios y práctica clínica. Editorial interamericana, S.A. de C. V. Mexico. 2° edición.1991. 525pp.

ANEXOS

1. Fase de laboratorio

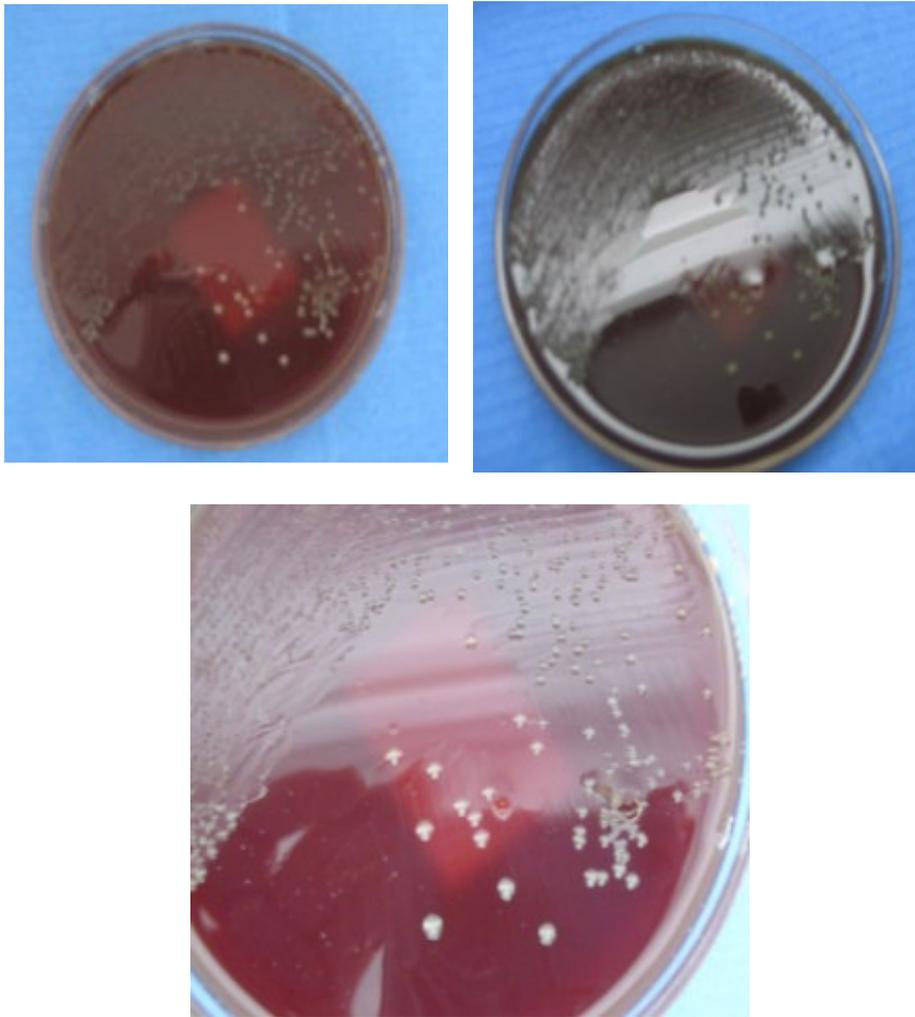


Figura N° 19. **Activación de las cepas Porfiromona Gingivalis, Enterococo Faecalis y Peptoestreptococos Anaerobios**



Figura N° 20. Procedimiento de preparación y contaminación de las muestras

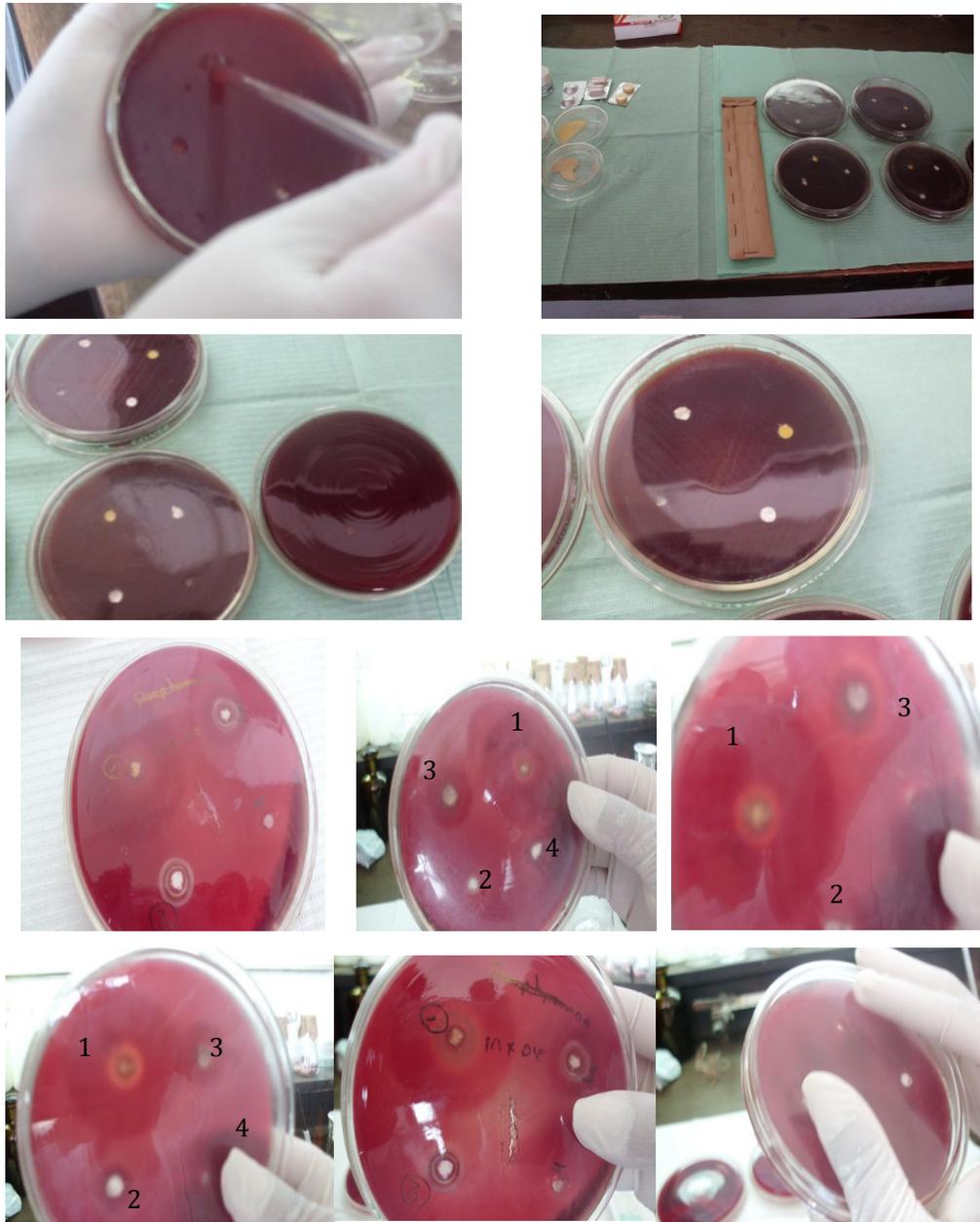


Figura N° 21. Colocación de pastas en agar y medición de halos de inhibición 3 Mix-MP (1), Calen PMCC® (2), control positivo (3) y control negativo (4)



Figura N° 22 .Recuperación de muestra y sembrado en placas

2. Pruebas Estadísticas

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de VAR00001 es la misma entre las categorías de VAR00004.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	,020	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de VAR00002 es la misma entre las categorías de VAR00004.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.	No se puede calcular.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre mix 3-mp y hidroxido es igual a 0.	Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo de muestras relacionadas	,011	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

Evaluación estadística de 3mix-Mp y Control Positivo

Descriptivos

	VAR00004	Estadístico	Error típ.	
3 Mix-MP	Media	38,2500	,85391	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	35,5325	
		Límite superior	40,9675	
	Media recortada al 5%	38,2778		
	Mediana	38,5000		
	Varianza	2,917		
	Desv. típ.	1,70783		
	Mínimo	36,00		
	Máximo	40,00		
	Rango	4,00		
	Amplitud intercuartil	3,25		
	Asimetría	-,753	1,014	
	Curtosis	,343	2,619	
	Control positivo	Media	19,7500	,75000
Intervalo de confianza para la media al 95%		Límite inferior	17,3632	
		Límite superior	22,1368	
Media recortada al 5%		19,7778		
Mediana		20,0000		
Varianza		2,250		
Desv. típ.		1,50000		
Mínimo		18,00		
Máximo		21,00		
Rango		3,00		
Amplitud intercuartil		2,75		
Asimetría		-,370	1,014	
Curtosis		-3,901	2,619	

Evaluación estadística de 3Mix-Mp, Calen PMCC®, Control Positivo y Control Negativo

Estadísticos descriptivos

		Estadístico	Bootstrap ^a			
			Sesgo	Error típico	Intervalo de confianza al 93.9%	
					Inferior	Superior
3 Mix-MP	N	8	0	0	8	8
	Rango	4				
	Mínimo	36				
	Máximo	40				
	Media	38,25	-,08	,54	37,13	39,25
	Desv. típ.	1,581	-,127	,310	,744	1,981
	Varianza	2,500	-,292	,848	,554	3,925
Calen PMCC®	N	8	0	0	8	8
	Rango	2				
	Mínimo	6				
	Máximo	8				
	Media	6,88	,05	,27	6,25	7,50
	Desv. típ.	,835	-,043	,161	,463	,991
	Varianza	,696	-,045	,233	,214	,982
control positivo	N	8	0	0	8	8
	Rango	3				
	Mínimo	18				
	Máximo	21				
	Media	19,75	,00	,42	18,88	20,62
	Desv. típ.	1,389	-,119	,179	,926	1,604
	Varianza	1,929	-,286	,453	,858	2,571
control negativo	N	8	0	0	8	8
	Rango	0				
	Mínimo	6				
	Máximo	6				
	Media	6,00	,00	,00	6,00	6,00
	Desv. típ.	,000	,000	,000	,000	,000
	Varianza	,000	,000	,000	,000	,000
N válido (según lista)	N	8	0	0	8	8

a. Unless otherwise noted, bootstrap results are based on 32 bootstrap samples

Descriptivos

Estadísticos descriptivos

	N	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
3Mix-MP	8	4,00	36,00	40,00	38,2500	1,58114	2,500
Calen PMCC®	8	2,00	6,00	8,00	7,0000	,75593	,571
N válido (según lista)	8						

Estadísticos de muestras relacionadas

	Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1 3Mix-MP	38,2500	8	1,58114	,55902
Calen PMCC®	7,0000	8	,75593	,26726

Correlaciones de muestras relacionadas

	N	Correlación	Sig.
Par 1 3Mix-MP y Calen PMCC®	8	-,598	,118

Estadísticos descriptivos

	Asimetría		Curtosis	
	Estadístico	Error típico	Estadístico	Error típico
3Mix-MP	-,542	,752	-1,024	1,481
Calen PMCC®	,000	,752	-,700	1,481
N válido (según lista)				