

**UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTO TORIBIO DE  
MOGROVEJO  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE ODONTOLOGÍA**



**EFECTO *IN VITRO* DE LA MEDICACIÓN  
INTRA CONDUCTO HIDRÓXIDO DE CALCIO  
CON OMEPRAZOL FRENTE AL CRECIMIENTO  
BACTERIANO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

**CHICLAYO, PERÚ**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:  
CIRUJANO DENTISTA**

**AUTOR: Bach. PADILLA CONTRERAS MARÍA DEL CARMEN  
Bach. RONCAL ESPINOZA ROSA JOSEFINA**

**Chiclayo, 20 de Enero del 2014**

**EFECTO *IN VITRO* DE LA MEDICACIÓN  
INTRACONDUCTO HIDRÓXIDO DE CALCIO  
CON OMEPRAZOL FRENTE AL CRECIMIENTO  
BACTERIANO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

POR:

**Bach. Padilla Contreras María Del Carmen**

**Bach. Roncal Espinoza Rosa Josefina**

Presentada a la Escuela de Odontología de la Facultad de  
Medicina de la Universidad Católica Santo Toribio de  
Mogrovejo, para optar el Título de:

**CIRUJANO DENTISTA**

APROBADO POR:

---

Esp. CD. Aurealuz Morales Guevara  
Presidenta de Jurado

---

CD. Juan Carlos Julca Lévano  
Secretario de Jurado

---

Mgr. CD. Mariano Wenceslao Ortiz Pizarro  
Vocal/Asesor de Jurado

**CHICLAYO, 2014**

*A mamá Elvia, por ser ella la luz que guía mi camino y a mi hijo Israel, por contarme una y otra vez las mismas historias, y robarme siempre una sonrisa. Por ser los mejores abuelos que puedo imaginar y estar siempre a mi lado, los amo.*

*A las personas que desde el primer instante de mi existencia, se han esforzado por mostrarme lo mejor de la vida, que han guiado cada uno de mis pasos, que me reconfortan en las derrotas y celebran conmigo mis logros, a ellos que en pocas palabras constituyen el mejor regalo que*

*Dios me ha dado:*

***Mis padres***

## ÍNDICE

Resumen	8
Abstract	9
I. INTRODUCCIÓN	10
II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	14
1. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA	14
2. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS	17
2.1. <i>Enterococcus</i>	17
2.2. Medicación intraconducto Hidróxido de calcio	19
2.3. Inhibidores de la bomba de protones Omeprazol	22
2.4. Inhibidor de la bomba de protones y <i>Enteroccus faecalis</i>	23
3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	25
3.1. <i>Enterococcus faecalis</i>	25
3.2. Medicación intraconducto	25
3.3. Inhibidor de la bomba de protones	25
3.4. Omeprazol	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	26
1. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	26
2. DISEÑO METODOLÓGICO	27
2.1. Tipo de estudio y diseño de estudio	27
2.2. Muestra de estudio y muestreo	27
2.3. Criterios de selección	27
2.4. Prueba piloto	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1. Obtención e identificación de la cepa de <i>E.</i>	28

	<i>faecalis</i>	
3.2.	Procesamiento de la cepa	28
3.3.	Procesamiento de la medición	29
3.4.	Recolección de datos	31
4.	Procedimientos para garantizar aspectos éticos en las investigaciones con sujetos humanos	31
5.	Plan de procesamiento y análisis de datos	32
IV.	RESULTADOS	33
1.	Análisis inferencial	34
V.	DISCUSIÓN	38
VI.	CONCLUSIONES	45
VII.	RECOMENDACIONES	46
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
IX.	ANEXOS	51

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1.</b> Composición de los grupos de experimentación	30
<b>Tabla N° 2.</b> Distribución de los grupos de experimentación	31
<b>Tabla N° 3.</b> Evaluación del efecto <i>in vitro</i> de Hidróxido de calcio	33
<b>Tabla N° 4.</b> Evaluación del efecto <i>in vitro</i> de la Asociación de Hidróxido de Calcio + Omeprazol	34
<b>Tabla N° 5.</b> Resultados de la prueba binomial (k=4, n=5 por nivel) Hidróxido de calcio más omeprazol	36
<b>Tabla N° 6.</b> Resultados de la prueba binomial (k=4, n=5 por nivel) Hidróxido de calcio.	37

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar el efecto *in vitro* de la medicación intraconducto hidróxido de calcio con omeprazol frente al crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*.

El diseño de estudio fue experimental. Los medicamentos hidróxido de calcio y omeprazol fueron diluidos, obteniéndose las concentraciones requeridas. Posteriormente, se colocó 9 ml de cada uno en placas petri, agregando 1 ml del inóculo; procediéndose a la siembra. No se observó Unidades Formadoras de Colonias (UFC), por lo que se evidencia que el efecto *in vitro* del hidróxido de calcio, así como la asociación de hidróxido de calcio con omeprazol inhiben el crecimiento de *Enterococcus faecalis*. Se realizó una prueba binomial donde los eventos esperados fueron que haya o no crecimiento bacteriano. La significación estadística fue del 5%.

El estudio concluyó que la asociación *in vitro* de hidróxido de calcio con omeprazol, inhibió el crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*, sin evidenciarse potencialización con el uso del inhibidor de la bomba de protones.

**Palabras claves:** Medicación intraconducto, hidróxido de calcio, Omeprazol, *Enterococcus faecalis*.



## ABSTRACT

The aim of the study was to determine the in vitro effect of calcium hydroxide intracanal medication with omeprazole against bacterial growth of *Enterococcus faecalis*.

The study design was experimental. The calcium hydroxide and omeprazole drugs were diluted to yield required concentrations. Subsequently, 9 ml of each was placed in petri dishes by adding 1 ml of the inoculum, proceeding to the planting. No colony forming units (CFU) was observed, as evidenced by the in vitro effect of calcium hydroxide as well as the association of calcium hydroxide with omeprazole inhibited the growth of *Enterococcus faecalis*. A binomial test where the expected events were whether or not bacterial growth was performed. Statistical significance was 5%.

The study concluded that the in vitro association of calcium hydroxide with omeprazole inhibited bacterial growth of *Enterococcus faecalis*, no evidence of potentiation by the use of the inhibitor of proton pump.

**Keys words:** Intracanal medication, calcium hydroxide, Omeprazole, *Enterococcus faecalis*.

## I. INTRODUCCIÓN

La terapia endodóntica puede finalizar en fracaso o éxito dependiendo de múltiples factores, los cuales pueden generarse en las siguientes fases: apertura cameral, preparación biomecánica u obturación. La gran mayoría de fracasos en el tratamiento se refiere a fallos en los procesos de desinfección y eliminación de los microorganismos en el sistema de conductos radiculares. Algunos de ellos parecen ser frecuentemente asociados a infecciones resistentes debido a sus factores de virulencia<sup>1, 2</sup>.

Las bacterias presentes en los conductos radiculares infectados pertenecen a un grupo restringido, de origen polimicrobiano, con predominio de bacterias anaerobias. *Enterococcus faecalis* con frecuencia está asociada con la persistencia de las infecciones endodónticas<sup>3-5</sup>.

Estudios *in vitro* han demostrado la capacidad de *Enterococcus faecalis* de penetrar en los túbulos dentinarios, convirtiéndose así en inaccesible a la acción de irrigantes y medicamentos intraconducto. Además, se verificó su capacidad de formación de biopelículas en el sistema radicular, incluso en presencia de un medicamento intraconducto<sup>6,7</sup>.

El hidróxido de calcio es un medicamento intraconducto que ha demostrado efectos antimicrobianos en los conductos radiculares, debido a su excelente acción bactericida y bacteriostática. Esto debido a su disociación en iones calcio e hidroxilo, que influyen en el metabolismo celular. Los efectos letales sobre las bacterias son debido a su efecto destructivo sobre las estructuras de la membrana celular de las proteínas (enzimas y proteínas estructurales) y el ADN real de las bacterias<sup>7</sup>.

Sin embargo, varios estudios han demostrado que el hidróxido de calcio es ineficaz en presencia de *Enterococcus faecalis*, a causa de la baja

difusión de iones hidroxilo en la dentina infectada o incluso por el efecto amortiguador de la dentina<sup>8</sup>.

Frente a este contexto, existe la necesidad de evaluar asociaciones de medicamentos que resulten en una mayor efectividad contra el *Enterococcus faecalis*, como los inhibidores de la bomba de protones.

## PROBLEMA

¿Cuál es el efecto *in vitro* de la medicación intraconducto hidróxido de calcio con omeprazol frente al crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*?

## HIPÓTESIS

La medicación intraconducto hidróxido de calcio con omeprazol no tiene un efecto antibacteriano *in vitro* frente al *Enterococcus faecalis*.

## OBJETIVOS

### General

Determinar el efecto *in vitro* de la medicación intraconducto hidróxido de calcio con omeprazol frente al crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*.

### Específicos

Determinar el efecto *in vitro* de la medicación intraconducto hidróxido de calcio con el omeprazol las concentraciones de 64, 32, 26, 8 mg/ml frente al crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*.

Determinar el efecto *in vitro* de la medicación intraconducto hidróxido de calcio a las concentraciones de 64, 32, 26, 8 mg/ml frente al crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*.

## JUSTIFICACIÓN

Estudios han demostrado la supervivencia de *Enterococcus faecalis* en un ambiente alcalino generado por el hidróxido de calcio. Asimismo, se ha sugerido que la resistencia del *Enterococcus faecalis* al hidróxido de calcio permite a esta bacteria sobrevivir en presencia del medicamento y proliferar cuando la acción de éste finaliza. Ello resulta en la colonización e infección del conducto radicular<sup>9</sup>.

Los inhibidores de la bomba de protones son fármacos que poseen un grupo benzimidazólico con elevada afinidad. Actúan bloqueando irreversiblemente la ATPasa (H<sup>+</sup>/ K<sup>+</sup> ATPasa) de membrana, una enzima encargada de la producción de ácido clorhídrico, que intercambia hidrógeno por potasio a ambos lados de la bicapa lipídica, llamada también bomba de protones<sup>10</sup>.

Mediante estudios preliminares se ha determinado que una bomba de protones está implicada en la resistencia bacteriana a un pH alto; esto sucede debido a que cuando se eleva el pH del medio ambiente, las bacterias intentan conservar el pH intracelular por bombeo de protones a través de la membrana citoplasmática para mantener el pH citoplasmático. Sin embargo, aún faltan estudios *in vitro* que determinen el verdadero efecto bactericida del sinergismo del hidróxido de calcio con un inhibidor de la bomba de protones, capaz de alterar la membrana celular bacteriana.

A partir de estas evidencias, se puede inferir que el medicamento intraconducto ideal no ha sido encontrado, por lo que es indispensable acudir a investigaciones mayores que verifiquen el grado de efectividad de éstos o la formulación de un nuevo producto que ayude a la eliminación completa de este microorganismo dentro de los conductos radiculares, mejorando de esta manera el pronóstico de los tratamientos endodónticos<sup>10</sup>.

## II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

### 1. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Ramon *et al.*<sup>11</sup> examinaron los efectos bactericidas del gel de Aloe vera como medicamento intraconducto, comparándolo con una pasta de hidróxido de calcio. Realizaron cultivos a la semana de la medicación, determinando que el efecto bactericida del gel de Aloe vera fue estadísticamente menor que la pasta de hidróxido de calcio, no obstante, esta propiedad no es la más aprovechable, y no se evaluó el efecto de ambos.

Siqueira *et al.*<sup>9</sup> estudiaron que el uso de un medicamento intraconducto puede ser útil en la eliminación de las bacterias restantes que sobrevivieron dentro de los conductos radiculares después de la preparación quimicomecánica. Este estudio evaluó la actividad antibacteriana de los medicamentos que actúan por medio de contacto, y no por la liberación de vapor. Los medicamentos utilizados fueron clorhexidina en gel al 0,12%; metronidazol en gel al 10%; hidróxido de calcio más agua destilada, hidróxido de calcio más paramonoclorofenol alcanforado (CPMC); e hidróxido de calcio más glicerina. Los resultados revelaron que el hidróxido de calcio más paramonoclorofenol alcanforado (PMC) fue efectivo contra todas las cepas bacterianas probadas. La clorhexidina fue también inhibitoria para todas las cepas. Era casi tan eficaz como el hidróxido de calcio más CPMC contra la mayoría de las cepas. El metronidazol también causó la inhibición del crecimiento de todos los anaerobios y fue más eficaz que el hidróxido de calcio más CPMC contra dos cepas. El hidróxido de calcio que fue mezclado con agua destilada o glicerina no mostró zonas de inhibición bacteriana, probablemente a causa de limitaciones de la prueba de difusión en agar.

Evans *et al.*<sup>10</sup> estudiaron que el *Enterococcus faecalis* puede resistir un pH alto, de hecho, esta es una característica de identificación de

*Enterococcus faecalis*. A un pH de 11,5 o mayor, *E. faecalis* no sobrevive, sin embargo, pueden sobrevivir a un pH por debajo de 11,5. Debido al efecto de amortiguación de la dentina, es poco probable que el pH alto de hidróxido de calcio (> 11,5) llegue dentro de los túbulos dentinarios donde el *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad, al *menos in vitro*, para penetrar profundamente. En la dentina radicular, la alcalinidad sólo puede llegar a 10,3 pH después de la preparación del conducto con hidróxido de calcio.

Evans *et al.*<sup>12</sup> llevaron a cabo un estudio cuyo propósito fue evaluar la eficacia antibacteriana de un medicamento intraconducto compuesto de hidróxido de calcio con clorhexidina al 2%, donde se determinó que el hidróxido de calcio en pasta más clorhexidina al 2% fue significativamente más eficaz en eliminar *Enterococcus faecalis* en los túbulos dentinarios a comparación con el hidróxido de calcio con agua.

Chávez de Paz *et al.*<sup>13</sup> lograron aislar 248 especies en 107 dientes de un total de 200 piezas dentarias con antecedente y evidencia clínica y radiográfica de periodontitis apical después de realizar tratamientos endodónticos, mostrando que una vez establecidos microorganismos como *Streptococcus mutans*, *Enterococcus* y *Lactobacillus*, estos fueron capaces de sobrevivir en el conducto radicular.

Sirén *et al.*<sup>14</sup> estudiaron la correlación entre varios parámetros clínicos y la presencia de *Enterococcus* en dientes donde el tratamiento fracasó; los resultados mostraron que la prevalencia de aislamientos de *Enterococcus faecalis* en el conducto aumentaba significativamente si el conducto había sido dejado sin sellar entre citas, en particular, cuando fueron muchas citas. La conclusión de este estudio fue que la asepsia comprometida durante el tratamiento endodóntico es un importante factor causal para la contaminación del conducto por *Enterococcus faecalis*.

Stuart *et al.*<sup>15</sup> mostraron que el *Enterococcus faecalis* es un microorganismo comúnmente detectado en infecciones asintomáticas endodónticas persistentes. Su prevalencia en este tipo de infecciones oscila entre 24% a 77%.

Calderon *et al.*<sup>16</sup> mostraron que la clorhexidina al 4%, 2% y 1% de manera individual, presentaron una actividad antimicrobiana elevada, y el hidróxido de calcio presentó una escasa capacidad para inhibir el crecimiento de *F. nucleatum*. La combinación de medicamentos intraconducto no potenció los efectos antimicrobianos de los medicamentos evaluados.

Herrera *et al.*<sup>17</sup> mostraron que el iodoformo tuvo acción antibacteriana para *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*, solo cuando fue utilizado el paramonoclorofenol como vehículo, se atribuyó la acción antibacteriana a este último; actividad semejante a la mostrada por el hidróxido de calcio puro y en asociación con el iodoformo. El iodoformo mostró mayor inhibición frente a *Pseudomonas aeruginosa*, en comparación a la acción mostrada frente a *Enterococcus faecalis*.

Rodríguez *et al.*<sup>2</sup> compararon *in vitro* la acción antimicrobiana de diversas medicaciones intraconducto frente a *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israeli*, se utilizó el test de difusión en agar frente a diversas pastas, incluyendo una pasta con base de metronidazol (Grinazole®), una pasta con base de dexametasona, tirtrocina, polimixana y neomicina (Septomixine forte®) y otra de hidróxido de calcio (Calcipulpe®) y Paroclorofenolalcanforado (KRI-3®). Se concluye que bajo las condiciones de este estudio, la pasta antibiótica Septomixine forte ha obtenido mayores halos inhibitorios que el resto de los medicamentos evaluados.

Delgado *et al.*<sup>18</sup> mostraron que el tratamiento endodóntico comúnmente se basa en la eliminación de los microorganismos inespecíficos intrarradiculares. El propósito de este estudio fue evaluar la



eficacia del hidróxido de calcio y el gel de clorhexidina en la eliminación intratubular de *Enterococcus faecalis*.

Baik *et al.* <sup>19</sup> mostraron que el ácido lipoteicoico (LTA) es un importante factor de virulencia de *Enterococcus faecalis* siendo este estrechamente asociado con periodontitis apical resistente al tratamiento. Se demostró que el hidróxido de calcio mejora la capacidad de LTA, estimulando la producción de factor de necrosis tumoral  $\alpha$  en una línea de macrófagos de ratones. Debido a que el hidróxido de calcio podría modificar el resto del glicolípido de LTA, se examinó si el hidróxido de calcio inactiva LTA a través de la desacilación de ésta.

## 2. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

### 2.1. *Enterococcus*

A mediados de los ochenta los *Enterococcus* fueron clasificados en un género separado. Por sus características básicas de observación (coloración Gram positiva, cadenas cortas o en pares, dispersión y catalasa negativos) habían sido clasificados dentro del género *Streptococcus*. Fueron clasificados como *Enterococcus* del grupo D tolerantes a la sal con la clasificación serológica de la Dra. Rebeca Lancefield y con el descubrimiento del antígeno del grupo D. Sin embargo, el antígeno del grupo D es un ácido lipoteicoico diferente a los antígenos del grupo de carbohidratos de otros *estreptococos*.

Las especies más importantes de *Enterococcus* son: *E. faecalis* (cavidad oral, tracto gastrointestinal, animales, agua, comida), *E. faecium* (cavidad oral, tracto gastrointestinal, animales, agua, comida), *E. gallinarum* (comida, infrecuentemente en humanos), *E. casseliflavus* (suelo, plantas, comida, infrecuentemente en humanos), *E. avium* (animales), *E. hirae* (animales) y *E. durans* (humanos, animales y comida).

Los *Enterococcus* son células esféricas u ovoideas, se presentan en pares o en cadenas cortas en medios líquidos. No forman esporas y algunas especies pueden ser móviles por presencia de escasos flagelos. Forman colonias cremosas blanquecinas, son Gram positivos, catalasa negativos y capaces de crecer en NaCl al 6,5%, en un rango de temperatura de 10°C a 45°C, pueden sobrevivir 30 minutos a 60°C y a un pH por encima de 9,6.<sup>18</sup> La mayoría de *Enterococcus* son anaerobios facultativos, aunque algunas especies son aerobias estrictas. Fermentan un amplio rango de carbohidratos en caldo de glucosa, produciendo principalmente ácido láctico y un pH final de 4,2 – 4,6, algunas veces con valores menores. Los *Enterococcus* normalmente no reducen nitratos y no digieren pectina o celulosa. Son especies ubicuas y potencialmente patógenas capaces de adquirir resistencia o tolerancia fenotípica a muchos desinfectantes o agentes químicos. El crecimiento en bilis esculina es una característica útil para la identificación de *Enterococcus*.

*Enterococcus faecalis* posee un antígeno de pared celular de carbohidrato del grupo D, el cual es un ácido teicoico con glicerol intracelular asociado con la membrana citoplasmática. La pared celular contiene una gran cantidad de peptidoglucano y ácidos teicoicos. El peptidoglucano (cadenas lineales de carbohidratos unidos por péptidos), el cual se encuentra en la mayoría de las paredes celulares bacterianas, ayuda a mantener la forma microbiana y tiene un sostén polisacárido que alterna ácidos de N - acetilglucosamina (GlcNAc) y N - acetilmurámico (MurNAc).

Estos polisacáridos están entrecruzados con puentes de péptidos y contribuyen a la estructura tridimensional del peptidoglucano. Debido a la localización del peptidoglucano en el exterior de la membrana citoplasmática y su especificidad, la transglicosilación ha sido indicada como un blanco potencial para los medicamentos antibacterianos<sup>20-2</sup>.

## 2.2. Medicación intraconducto

En lo que respecta a la medicación intraconducto, en la literatura odontológica se conoce también como medicación entre sesiones o medicación local. Es la colocación de un fármaco en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones, necesario para la conclusión del tratamiento endodóntico. Tiene por finalidad hacer que el sistema de conductos radiculares con pulpa necrosada e infectada sea un medio impropio para el desarrollo bacteriano; inhibiendo y/o destruyendo los microorganismos que escaparon a la acción de la preparación biomecánica, especialmente los que se albergan en las ramificaciones laterales, en los canalículos dentinarios, en los deltas y en los “nichos” de los cráteres resultantes de la erosión apical<sup>22-4</sup>.

En los casos de dientes con pulpa mortificada o infectada, la medicación será un auxiliar en la desinfección del sistema de conductos radiculares, sobre todo en lugares inaccesibles a la instrumentación, como las ramificaciones del conducto principal y los túbulos dentinarios.<sup>21</sup> En este caso la medicación de elección debe tener un espectro amplio de acción y actuar por un periodo prolongado. Además debe modular la inflamación de los tejidos periapicales, neutralizar los restos orgánicos que puedan estar presentes; además de ayudar a secar los conductos persistentemente húmedos por el exudado<sup>22</sup>.

### Hidróxido de calcio

Es un polvo de color blanco alcalino, poco soluble en agua. Se mezcla con un vehículo preferentemente acuoso o hidrofílico (agua estéril, solución fisiológica, propilenglicol, entre otros), para que se produzca la disociación iónica<sup>25</sup>.

Al colocarse en el conducto en contacto directo con las paredes dentinarias, se produce, en presencia de agua, la ionización del hidróxido

de calcio y por consiguiente, la alcalinización del medio. Al llegar al interior de los túbulos dentinarios, los iones hidroxilo modifican el pH de la dentina, lo que provoca la destrucción de la membrana celular de las bacterias y de sus estructuras proteicas. Sin embargo, la velocidad de difusión de iones hidroxilo es lenta debido a la capacidad de taponamiento inherente de la dentina.

Este medicamento actúa sobre las endotoxinas bacterianas, hidroliza la porción lipídica del lipopolisacárido bacteriano, presente en la pared celular de las bacterias anaerobias Gram negativas y neutralizan su acción estimulante sobre el proceso de reabsorción del tejido óseo. Sus propiedades se deben a su actividad antimicrobiana, su capacidad para inactivar lipopolisacáridos, su capacidad para promover la formación de tejido duro, y su acción de larga duración.

Es el medicamento intraconducto más utilizado, indicado en el control y tratamiento de las reabsorciones radiculares, perforaciones, tratamiento de fracturas transversales, apicogénesis, tanto en dientes con o sin vitalidad y en piezas que presenten o no lesión periapical<sup>22</sup>.

Los efectos letales de hidróxido de calcio se deben a varios mecanismos:

(A) una acción química por medio de:

- Daño a la membrana citoplasmática microbiana por la acción directa de los iones hidroxilo.
- La supresión de la actividad de la enzima y la interrupción del metabolismo celular.
- Hidrólisis de los lipopolisacáridos neutralizando su efecto residual.
- La inhibición de la replicación del ADN por división del ADN.

(B) físicamente por:

- Actuar como una barrera física que llena el espacio dentro del canal e impide la entrada de bacterias en el sistema de conductos.

- Eliminar a los microorganismos restantes mediante la retención de sustratos para el crecimiento y la limitación de espacio para la multiplicación
- Alteración de la forma y motilidad de las bacterias.

La permanencia de este medicamento para que surta efecto debe ser de 7 días. Por lo que la limitada eficacia a corto plazo de hidróxido de calcio en la desinfección de los túbulos dentinarios se debe a varios factores:

- Inhibición por la capacidad buffer de la proteína dentinal, particularmente para llegar al tercio apical y tener un efecto antibacteriano.
- La baja solubilidad y difusibilidad del hidróxido de calcio puede hacer que sea difícil aumentar rápido el pH para alcanzar el nivel necesario y eliminar bacterias dentro de los túbulos dentinarios y variaciones anatómicas.
- Densos biofilms bacterianos situados dentro de los túbulos dentinarios pueden protegerse profundamente en el interior de los túbulos.

El tejido necrótico en las ramificaciones, istmos y las irregularidades pueden proteger a las bacterias de la acción del hidróxido de calcio, debido a la capacidad de *Enterococcus faecalis* para colonizar en los túbulos dentinarios y evadir los iones hidroxilo.

- Hidróxido de calcio promueve la adhesión de las bacterias al colágeno, lo que aumenta el grado de invasión del túbulo y la resistencia a favorecer desinfección<sup>1</sup>.

Podemos concluir que ningún antimicrobiano cumple con todas las exigencias y el uso debe ser analizado cada caso en particular, siguiendo el criterio clínico especialmente en relación a la sintomatología<sup>24</sup>.

### 2.3. Inhibidores de la bomba de protones (IBP)

Los IBP son fármacos que poseen un grupo benzimidazólico con elevada afinidad. Actúan bloqueando irreversiblemente la ATPasa (H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa) de membrana, una enzima encargada de la producción del ácido clorhídrico, que intercambia hidrógeno por potasio a ambos lados de la bicapa lipídica, llamada también bomba de protones. Esta enzima participa en la etapa terminal de la secreción de protones en el estómago, y es directamente responsable de la secreción de iones H<sup>+</sup> al lumen del estómago, haciéndola una diana ideal para la inhibición de la secreción ácida. Consiguen una inhibición del ácido gástrico muy potente y duradera (24-48 h), aunque su comienzo de acción es lento<sup>26-30</sup>.

Los Inhibidores de la bomba de protones son bases débiles (pKa 5,4) y son permeables a la membrana plasmática en su forma no ionizada (no protonada) y relativamente impermeable en la forma ionizada (protonada). Por consiguiente, tienden a acumularse en medios ácidos con un pH < 4. Al estar mayoritariamente en su forma no ionizada, esto facilita su pasaje y distribución en el organismo. Por el contrario, cuando ingresan al canalículo secretor de la célula parietal (pH < 1) el 99,9% de los IBPs se ionizan, en este estado se tornan impermeables a la membrana celular, por lo tanto no pueden salir y quedan atrapados en dicho lugar. En un ambiente ácido, se comportan como un profármaco, es decir, se activan bajo la forma de una sulfenamida, que a su vez se une a la bomba de protones mediante un enlace covalente de disulfuro en los residuos de cisteína en la zona luminal expuesta de la bomba de protones, más específicamente, en la subunidad alfa de esta enzima, inactivándola.

Existen cinco agentes de uso clínico: omeprazol (OMZ), lansoprazol (LNZ), pantoprazol (PNZ), rabeprazol (RBZ) y esomeprazol (EMZ) que es el isómero S del omeprazol<sup>29</sup>.

## Omeprazol

Esta sustancia consiste en cristales blancos que se funden alrededor de 156°C, posee carácter básico débil y es libremente soluble en lípidos, etanol y metanol, ligeramente soluble en acetona e isopropanol y muy poco soluble en agua. La estabilidad de la sustancia está en función del pH, pues se degrada rápidamente en medio ácido.

El omeprazol, es un derivado bencilimidazólico sustituto, con alta potencia y selectividad en su acción inhibitoria de la secreción ácida gástrica, tanto basal como estimulada. Su mecanismo único de actuación para reducir la secreción ácida es la inhibición de la enzima hidrógeno/potasio adenosina trifosfatasa o (H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>) ATPasa gástrica<sup>31</sup>.

El efecto antisecretor del omeprazol se registra dentro de la hora, con el máximo efecto dentro de las 2 horas. La inhibición de la secreción continúa siendo de alrededor del 50 % a las 24 horas y dura unas 72 horas. La inhibición de la secreción ácida alcanza su máximo efecto en 3 a 4 días y permanece entre 3 y 5 días luego de suspender el tratamiento. En dosis terapéuticas de 20 a 40 mg el omeprazol produce un descenso del 80 al 95 % de la acidez intragástrica que dura 24 horas.

Se usa para el tratamiento de las enfermedades ácido péptidas y ha sido aprobada para el tratamiento de corto plazo de la ulcera duodenal, el reflujo gastroesofágico grave o de poca frecuencia. También es efectivo en la prevención de úlceras por antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y sus complicaciones<sup>32</sup>.

### 2.4. Inhibidor de la bomba de protones y *Enterococcus faecalis*

La especie *Enterococcus faecalis*, se ha reportado en un alto porcentaje de fracasos endodónticos gracias a su capacidad de resistir el alto pH del hidróxido de calcio. Los mecanismos específicos de

supervivencia frente a la exposición del hidróxido de calcio aún no son claros.

Sin embargo, se realizó un estudio para determinar si una bomba de protones estaba implicada en la resistencia a un pH alto; debido a que cuando se eleva el pH del medio ambiente, las bacterias intentan conservar el pH intracelular por bombeo de protones a través de la membrana citoplasmática para mantener el pH citoplasmático. El inhibidor de la bomba de protones, carbonilo cianuro m-chlorophenylhydrazone (CCCP), se utilizó para determinar si este mecanismo puede jugar un papel en la tolerancia de *Enterococcus faecalis* a las condiciones alcalinas.

Cuando las células fueron expuestas al hidróxido de calcio a un pH de 11, durante 30 minutos, se observó una reducción de 20 veces la supervivencia celular en presencia de CCCP que en comparación con la exposición del hidróxido de calcio en ausencia del inhibidor de la bomba de protones. Este efecto producido por el CCCP era aparentemente dependiente del tiempo. Estos resultados muestran que el funcionamiento de una bomba de protones con la capacidad para conducir protones en la célula y acidificar el citoplasma es crítico para la supervivencia de *Enterococcus faecalis* a un pH alto. Estos resultados pueden abrir la posibilidad de nuevos enfoques para abordar este problema clínico en el tratamiento endodóntico<sup>10</sup>.

Por otro lado, en un estudio, cuyo objetivo fue evaluar la eficacia de la asociación de un inhibidor de la bomba de protones (omeprazol) con hidróxido de calcio como medicamento intracanal realizado en ratas con lesiones periapicales, se logró determinar que, la reducción de las lesiones periapicales y la infiltración celular inflamatoria mejoró visiblemente mediante la asociación de omeprazol con hidróxido de calcio, con un aumento de áreas de hueso reparativo; asimismo, la evaluación microbiológica mostró una disminución significativa de unidades formadoras de colonias<sup>33</sup>.



### 3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

#### 3.1. *Enterococcus faecalis*

*Enterococcus faecalis* es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado. El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros y es un habitante normal del tracto gastrointestinal humano, sin embargo ha sido identificado como una causa frecuente de infecciones periapicales persistentes<sup>3</sup>.

#### 3.2. Medicación intraconducto

Es la combinación de dos o más sustancias que hacen sinergismo entre ellas, potenciando su efecto antibacteriano, la cual es utilizada para inhibir y destruir microorganismos que escaparon de la acción de la preparación biomecánica<sup>25</sup>.

#### 3.3. Inhibidor de la bomba de protones

Fármacos que poseen un grupo benzimidazólico, actúan inhibiendo de forma irreversible la enzima H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPasa, una enzima que intercambia hidrógeno por potasio a ambos lados de la bicapa lipídica situada en la membrana de la célula parietal gástrica<sup>28</sup>.

#### 3.4. Omeprazol

El omeprazol es una base débil lipofílica con un pH de 4,0. Aproximadamente a un pH de 7, el omeprazol no presenta carga eléctrica y es altamente liposoluble, por lo que puede atravesar las membranas celulares con facilidad <sup>31</sup>.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL E INDICADORES	TIPO		ESCALA DE MEDICIÓN
			SEGÚN SU CARACTERÍSTICA	SEGÚN SU FUNCIÓN	
TIPO DE MEDICACIÓN INTRACONDUCTO	Es la combinación de dos o más sustancias que hacen sinergismo entre ellas potenciando su efecto antibacteriano, la cual es utilizada para inhibir y destruir microorganismos que escaparon de la acción de la preparación biomecánica <sup>25</sup>	Pasta A: Hidróxido de calcio al 99% más omeprazol a una concentración de 64 mg/ml, Pasta B: Hidróxido de calcio al 99% más omeprazol a una concentración de 32 mg/ml, Pasta C: Hidróxido de calcio al 99% más omeprazol a una concentración de 16 mg/ml Pasta D: Hidróxido de calcio al 99% más omeprazol a una concentración de 8 mg/ml. Pasta E: Hidróxido de calcio al 99% más suero fisiológico.	CATEGÓRICA	INDEPENDIENTE	NOMINAL
CRECIMIENTO BACTERIANO DE <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i>	Crecimiento bacteriano en condiciones específicas de <i>Enterococcus faecalis</i> <sup>3</sup> .	Halo de inhibición de crecimiento de las unidades formadoras de colonias	NUMÉRICA	DEPENDIENTE	DE RAZÓN

## 2. DISEÑO METODOLÓGICO

### 2.1. Tipo de estudio y diseño de estudio

El tipo de investigación de acuerdo a su finalidad es básica y de acuerdo al diseño es un pre-experimento de post-prueba con grupo control.

### 2.2. Muestra de estudio y muestreo

El diseño del muestreo fue no probabilístico y estaba conformado por 41 placas petri, distribuidas de la siguiente manera: una placa Petri, perteneciente al grupo control, en la que se sembró la bacteria, sin los medicamentos. Veinte placas Petri conteniendo 9 ml de hidróxido de calcio al 99% y lo restante conteniendo la asociación de hidróxido de calcio con omeprazol a concentraciones de 64 mg/ml, 32 mg/ml, 16 mg/ml y 8 mg/ml, más 1 ml del inóculo de *Enterococcus faecalis*, para ambos casos.

### 2.3. Criterios de Selección

- Cepa obtenida e identificada de la familia *Enterococcus*, especie *faecalis*.
- Muestras sin contaminación alguna.
- Concentraciones exactas de hidróxido de calcio y omeprazol.
- Correcta densidad bacteriana.

Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se procedió a la uniformidad de criterios gracias a la capacitación y participación del Mblgo. Gustavo M. Moreno Echeandía, docente de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo y al Mblgo. Mario Moreno Mantilla, docente de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, presentes durante la fase experimental.

### 2.4. Prueba Piloto

Consistió en la identificación de la cepa y estandarización de criterios de los investigadores, gracias a la capacitación y participación de un microbiólogo, presente durante la fase experimental.

La prueba también verificó las condiciones de la aplicación, procedimientos involucrados y modificaciones pertinentes en el estudio.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Obtención e identificación de la cepa de *Enterococcus faecalis*

La cepa de *Enterococcus faecalis* fue proporcionada por el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, a cargo del Lic. Mario C. Moreno Mantilla, en Abril del año 2013. A su vez, dicha cepa fue sometida a pruebas de identificación, donde se certificó que corresponde a la especie y familia correcta (Ver Anexo 1); dando positivo a las pruebas bioquímicas: Catalasa positivo, agar sangre, agar telurito, sorbitol y argabinosa (Ver Anexo 2).

#### 3.2. Procesamiento de la cepa

La cepa de *Enterococcus faecalis* se sembró en el medio de cultivo tripticasa soya, siendo incubada por 24 horas (Ver Anexo 3).

Posteriormente se ajustó hasta lograr una suspensión bacteriana equivalente a una turbidez estándar de 0,5 en la escala de McFarland. El objetivo de este procedimiento fue establecer el número de bacterias por ml de fluido, que es equivalente a aproximadamente 10<sup>8</sup> bacterias por ml, correspondiente a una densidad bacteriana de 1,5 x10<sup>8</sup> (Ver Anexo 4).

Los inóculos, una vez ajustados al 0,5 de la escala de McFarland, fueron sometidos a diluciones en solución salina estéril, para obtener las concentraciones de 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup> (Ver Anexo 5).

Posteriormente, a través de la técnica de la placa vertida, se realizó el cultivo en las 5 placas Petri respectivas, utilizando para ello el agar de

conteo Plate-Count, al que se le agregó sales de telurito para obtener una mejor visualización y conteo de las colonias bacterianas.

Una vez que se llevó a cabo el proceso de solidificación, se procedió a sembrar la cepa de *Enterococcus faecalis* en sus distintas diluciones (Ver Anexo 6).

Terminada la siembra, se procedió a incubar por 24 horas a 37°C (Ver Anexo 7). Posterior a la incubación, se realizó el conteo de las UFC, tomando como referencia la placa rotulada como 10<sup>-5</sup> en la que fue posible el conteo.

### 3.3. Procesamiento de la medición

Para este estudio, se utilizaron dos tipos de medicamentos: hidróxido de calcio en polvo al 99 % de pureza, en presentación comercial de frascos de 10 gr. y tabletas de omeprazol de 20 mg, en presentación comercial.

El primer paso fue rotular los recipientes de vidrio previamente esterilizados, éstos se rotularon en dos grupos correspondientes al hidróxido de calcio y al hidróxido de calcio más omeprazol.

Luego, se realizó las mediciones del hidróxido de calcio en la balanza analítica, pesando para esto porciones de 0,64 mg; 0,32mg; 0,16 mg y 0,8 mg para cada grupo experimental (Ver Anexo 8).

Una vez realizado este procedimiento, se agregaron las porciones de omeprazol de 0,512 mg para los 4 recipientes del segundo grupo (hidróxido de calcio más omeprazol), y debido a que la presentación del omeprazol es en cápsulas, éstas fueron trituradas en un mortero (Ver Anexo 9).

Posteriormente, se agregó el agar y el agua destilada hasta alcanzar las concentraciones requeridas (Ver Anexo 10 y 11), tal como lo presenta la tabla N°1.

**Tabla N° 1**  
**Composición de los grupos de experimentación**

<b>Grupo 1:</b> Hidróxido de calcio	<b>Grupo 2:</b> Hidróxido de calcio + omeprazol
64 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 4 g. Agar TSA + 10 ml.	64 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 mg omeprazol + 4 g. Agar TSA + 10 ml.
32 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 4 g. Agar TSA + 10 ml.	32 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 mg omeprazol + 4 g. Agar TSA + 10 ml.
16 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 4 g. Agar TSA + 10 ml.	16 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 mg omeprazol + 4 g. Agar TSA + 10 ml.
8 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 4 g. Agar TSA + 10 ml.	8 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 mg omeprazol + 4 g. Agar TSA + 10 ml.

Los recipientes ya preparados con los medicamentos y previamente rotulados, fueron llevados al autoclave para su esterilización (Ver Anexo 12).

Como ya se obtuvo previamente la dilución a través de la cual se pudo realizar el contero de UFC ( $10^{-5}$ ), se procedió a realizar nuevamente el ajuste a la escala de McFarland hasta lograr la dilución  $10^{-5}$ , con la cual se trabajó.

Una vez hecho esto, se rotularon 8 placas petri, previamente esterilizadas, en las cuales se vertió la solución elaborada con los medicamentos y el cultivo. Se esperó la solidificación, para luego sembrar con el asa de cultivo. (Ver Anexos 13,14). La siguiente tabla muestra la distribución de los grupos de experimentación.

**Tabla No. 2**  
**Distribución de los grupos de experimentación**

Grupo N°1	Grupo N°2	Grupo N°3
Hidróxido de calcio	Asociación de hidróxido de calcio + omeprazol	Grupo control
8 mg. Ca(OH) <sub>2</sub>	8 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 O	
16 mg. Ca(OH) <sub>2</sub>	16 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 O	
32 mg. Ca(OH) <sub>2</sub>	32 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 O	Siembra sin medicamento
64 mg. Ca(OH) <sub>2</sub>	64 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 O	

A las 24 horas de realizada la siembra, se leyeron los resultados en las placas Petri. No se observó UFC en las placas Petri correspondientes al grupo de hidróxido de calcio y tampoco en el correspondiente al hidróxido de calcio + omeprazol; por lo tanto, se comprobó, *in vitro*, que ambos grupos inhibieron satisfactoriamente al *Enterococcus faecalis*.

Para corroborar el estudio se realizaron 4 repeticiones, dando en todas el mismo resultado (Ver Anexo 15).

#### 3.4. Recolección de datos:

Los datos obtenidos fueron recolectados en un instrumento diseñado para tal fin. (Ver Anexo 16).

#### 4. Procedimientos para garantizar aspectos éticos en las investigaciones con sujetos humanos

Las cepas bacterianas fueron obtenidas del banco de cepas del laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, previa autorización del Mblgo. Mario Moreno Mantilla, jefe de laboratorio.

En ningún momento se tuvo contacto directo con muestras biológicas de pacientes.

Para la ejecución de esta investigación, el personal investigador tomó todas las medidas estándares de bioseguridad establecida por el Ministerio Nacional de Salud (MINSA) para manejo antes, durante y después de cada procedimiento microbiológico.

Los campos de acción de esta investigación fueron los ambientes del Laboratorio de Microbiología y Genética de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, con ayuda del Mblgo. Gustavo Moreno Echeandía.

Cabe mencionar que para la ejecución de esta investigación no fue necesario trabajar con una cámara de bioseguridad, debido a que los cocos Gram positivos no son microorganismos esporulados, por lo que está permitido trabajar en un laboratorio nivel I.

##### 5. Plan de procesamiento y análisis de datos

Los datos recolectados fueron registrados en una base de datos elaborada en Excel 2010 para ser resumidos, procesados y presentados en tablas de frecuencias absolutas y relativas.

El efecto de la asociación del hidróxido de calcio al 99% con el omeprazol a diferentes concentraciones frente al crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis* fue evaluado empleando una prueba binomial, donde los eventos esperados son que presenten o no crecimiento bacteriano. Se realizó una prueba binomial para cada concentración usando sólo hidróxido de calcio como la combinación de éste con el omeprazol. La significación estadística fue considerada al 5%.



#### IV. RESULTADOS

Al examinar las placas Petri de cada grupo, durante una semana, en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, siguiendo los criterios de selección se logró obtener la siguiente información:

**Tabla N° 3**

**Evaluación del efecto *in vitro* de Hidróxido de calcio**

Concentración	N° de colonias por placa	UFC total	% de cumplimiento
8 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> (n=5)	0	0	100
16 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> (n = 5)	0	0	100
32 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> (n = 5)	0	0	100
64 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> (n = 5)	0	0	100

Como se observa en la tabla anterior en el 100 % de las placas petri de hidróxido de calcio no hubo crecimiento bacteriano, por tanto el número de UFC en cada concentración fue de 0.

**Tabla N° 4**

**Evaluación del efecto *in vitro* de la medicación  
intraconducto Hidróxido de Calcio + Omeprazol**

Concentración	N° de colonias por placa	UFC total	% de cumplimiento
	0		100
8 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 O (n = 5)		0	
16 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 O (n = 5)	0	0	100
32 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 O (n = 5)	0	0	100
64 mg. Ca(OH) <sub>2</sub> + 0,512 O (n = 5)	0	0	100

Como se observa en la tabla anterior, el 100 % de las placas Petri con hidróxido de calcio + omeprazol no mostraron crecimiento bacteriano, por tanto el número de UFC en cada concentración fue de 0.

Se determinó que el efecto *in vitro* de la asociación del hidróxido de calcio al 99% con el omeprazol, así como el hidróxido de calcio solo, a diferentes concentraciones, inhibe el crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*.

1. Análisis inferencial

Al no obtener datos numéricos, pues en ningún tubo, hubo crecimiento, se descartaron las pruebas de comparaciones de medias entre grupos como la prueba de Kruskal Wallis (para distribuciones no paramétricas). Por tanto se hicieron pruebas binomiales.

### Prueba binomial

La predicción, es que el medicamento en cada tubo donde previamente se sembró una alícuota de *Enterococcus faecalis*, inhibiría el crecimiento de la bacteria.

#### Paso I. Hipótesis de nulidad

$$H_0: p_1 = p_2 = 0.5$$

Esto se refiere a que, no hay diferencia entre la probabilidad de que haya o no crecimiento bacteriano en las placas Petri en las que se agregó hidróxido de calcio + omeprazol, cualquier diferencia observable entre las frecuencias es de tal magnitud que podría esperarse en una muestra de la población de los resultados posibles conforme a  $H_0$ .

$$H_a: p_1 \neq p_2$$

#### Paso II. Prueba estadística

Se elige la prueba binomial porque los datos se presentan únicamente en dos categorías y se debe realizar un análisis por cada concentración.

#### Paso III. Nivel de significancia

$$\alpha = 0.05$$

$$n = 5$$

#### Paso IV. Distribución muestral

La distribución muestral está dada por:

$$P(x) = \binom{n}{x} (\pi_1)^x (\pi_2)^{(n-x)}$$

#### Paso V. Región de rechazo

La región de rechazo consiste en todos los valores de  $x$  (cuando  $x$  es número de tubos donde hubo crecimiento bacteriano) tan pequeños que la probabilidad asociada con su ocurrencia conforme a la hipótesis nula es igual o diferente que  $\alpha=0,05$ .

#### Paso VI. Decisión

En el experimento, ninguna placa Petri mostró crecimiento bacteriano. En este caso, “N” es el número de observaciones independientes: 5, “X” es la frecuencia menor: 0. Como el valor  $p$  calculado fue  $< \alpha$ , se rechaza la hipótesis nula y se concluye que la probabilidad de que haya o no crecimiento bacteriano en los tubos en los que se agregó hidróxido de calcio + omeprazol pequeña y que no se debe al azar.

**Tabla N° 5**  
**Resultados de la prueba binomial (k=4, n=5 por nivel)**  
**hidróxido de calcio más Omeprazol**

		Categoría	N	Proporción observada	Prop. de prueba	Sig. exacta (bilateral)
Crecimiento bacteriano	64/0,512 ml	No hubo crecimiento	5	1.00	.50	0.031
	32/0,512 ml	No hubo crecimiento	5	1.00	.50	0.031
	16/0,512 ml	No hubo crecimiento	5	1.00	.50	0.031
	8/0,512 ml	No hubo crecimiento	5	1.00	.50	0.031

**Tabla N° 6**  
**Resultados de la prueba binomial (k=4, n=5 por nivel)**  
**Hidróxido de calcio**

		Categoría	N	Proporción observada	Prop. de prueba	Sig. exacta (bilateral)
Crecimiento bacteriano	8 mg/ ml	No hubo crecimiento	5	1.00	.50	0.031
	16 mg/ ml	No hubo crecimiento	5	1.00	.50	0.031
	32 mg/ ml	No hubo crecimiento	5	1.00	.50	0.031
	64 mg/ ml	No hubo crecimiento	5	1.00	.50	0.031

## V. DISCUSIÓN

El presente estudio relacionó la efectividad de la asociación *in vitro* de dos medicamentos intraconducto, hidróxido de calcio y omeprazol, a diferentes concentraciones frente al crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis*. En la literatura consultada, son pocos los estudios realizados sobre el tema, entre los que se encuentran los de Meirelles y Wagner, con los cuales los resultados obtenidos en el presente trabajo han podido ser comparados.

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian que el efecto *in vitro* del hidróxido de calcio a diferentes concentraciones, así como la asociación de hidróxido de calcio con omeprazol inhiben el crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis*.

Como se observó, ambos tratamientos son efectivos, sin embargo, no se puede comparar los resultados usando en un mismo análisis estadístico ambas muestras, debido a que los resultados no exhiben variabilidad alguna, es decir, el resultado fue el mismo para cada concentración y cada medicamento. Refiriéndonos a la muestra, podremos decir que en cada una de las concentraciones de cada medicamento se observó un efecto inhibitorio, pero no podemos decir que ambos son igual de efectivos, pues se necesitaría otra metodología estadística que no se puede realizar para este estudio con el reducido tamaño de muestra.

Por otro lado, el análisis inferencial (prueba binomial) indicó que en la población de la que se obtuvo la muestra, la probabilidad de que los resultados donde no hubo crecimiento bacteriano, es decir, en ninguna de las placas petri, se deba al azar, fue muy baja y por tanto se debió seguramente al medicamento agregado a las placas Petri. Esto quiere decir, que si se toma otras placas sembradas con la bacteria y se les agrega

ya sea hidróxido de calcio o hidróxido de calcio + omeprazol, estos medicamentos seguirán inhibiendo el crecimiento bacteriano.

Estos resultados difieren de los encontrados en el estudio de Meirelles, en donde se utilizó una metodología similar. En este caso, se mostró que el hidróxido de calcio posee una actividad antimicrobiana sobre *Enterococcus faecalis*, que mejora cuando se combina con omeprazol. Los resultados de esta investigación demostraron que el omeprazol no fue capaz de eliminar el *Enterococcus faecalis*, pero cuando se utiliza en combinación con el hidróxido de calcio, redujo en un 50% su MIC<sup>5</sup>.

El estudio realizado por Wagner *et al*, evaluó la eficacia de la asociación de un inhibidor de la bomba de protones (omeprazol) con hidróxido de calcio como medicamento intracanal en ratas con lesiones periapicales. El análisis radiográfico e histológico reveló que, el hidróxido de calcio más omeprazol producen una reducción de las lesiones periapicales a los 28 días, en comparación con el grupo control negativo. La reducción de las lesiones periapicales y la infiltración celular inflamatoria estaba visiblemente mejorada mediante la asociación de omeprazol con hidróxido de calcio, con un aumento de las zonas óseas reparadoras. La evaluación microbiológica mostró una disminución significativa de las unidades formadoras de colonias después de la preparación y medicación, pero no se observaron diferencias después de la obturación final<sup>33-4</sup>.

Por otro lado, Evans *et al*, llevaron a cabo un estudio cuyo propósito fue evaluar la eficacia antibacteriana de un medicamento intraconducto compuesto de hidróxido de calcio con clorhexidina al 2%, donde se determinó que el hidróxido de calcio en pasta más clorhexidina al 2% fue significativamente más eficaz eliminando al *Enterococcus faecalis* en los túbulos dentinarios, a comparación con el Hidróxido de calcio mezclado con agua<sup>12</sup>.

En los estudios antes enunciados se muestra una mayor eficacia en la inhibición del crecimiento bacteriano cuando se usa la asociación del Hidróxido de calcio, en este caso con omeprazol. Sin embargo, como ya se mencionó anteriormente, al comparar estos estudios con los resultados de esta investigación, se evidencian variaciones, las mismas que pueden tener diferente etiología.

Las bacterias existen en la naturaleza bajo dos formas: bacterias planctónicas, de libre flotación, y bacterias biofilm o biopelícula, que son una comunidad microbiana sésil, caracterizada por células que están adheridas irreversiblemente a un sustrato o interfase, encerradas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que ellas han producido, y exhiben un fenotipo alterado en relación con la tasa de crecimiento y transcripción génica<sup>35-6</sup>. Un ejemplo aquí es el *Enterococcus faecalis*, conocido por su capacidad para formar biopelículas *in vitro*<sup>37</sup>. Sin embargo, Carniol *et al.* mencionan en su investigación una asociación entre la formación de biopelículas y la virulencia en algunas bacterias, incluyendo al *Enterococcus faecalis*. Aunque no está claro que la capacidad de *Enterococcus faecalis* para formar biopelículas es esencial para la virulencia, parece que la mayoría de los aislados clínicos no poseen la capacidad de formar una biopelícula *in vitro*<sup>38</sup>. Esto puede deberse a que la formación de biopelículas, en algunos casos requiere la activación de la expresión génica dependiente de la densidad mediada a través de la señalización célula-célula o de la detección del quórum. La detección del quórum es un sistema de transducción de la señal dependiente de la densidad celular, que controla una variedad del comportamiento fisiológico en las bacterias. Durante la detección de quórum, las bacterias producen y secretan las pequeñas moléculas de señal fuera de la célula para reconocer la densidad de población<sup>39</sup>. Estudios recientes han sugerido que también regula la formación de biopelículas y otros genes importantes para la virulencia<sup>40</sup>.



Así mismo, Hancock y Perego proporcionan una fuerte evidencia de que la actividad de una única enzima controlada por una única vía de transducción de señales juega un papel clave en la formación de biopelículas de *Enterococcus faecalis*. Este hallazgo establece un nuevo enfoque para la investigación de los mecanismos moleculares de desarrollo de la biopelícula y plantea la posibilidad para el desarrollo de un agente terapéutico dirigido a impedir el establecimiento de biopelículas *in vivo*<sup>38</sup>. Algunos determinantes genéticos son necesarios para la formación de biofilm *in vitro* y la investigación sobre la relevancia de estos hallazgos *in vivo*, utilizando modelos animales adecuados que imiten la compleja interacción entre el biofilm y anfitrión, es necesario<sup>41</sup>.

Las investigaciones *in vitro* están caracterizadas por el hecho de que las condiciones son artificiales y son reconstrucciones de lo que podría suceder clínicamente<sup>42</sup>. Pese a ello, los estudios *in vitro* no reflejan adecuadamente la situación *in vivo* que es mucho más relevante<sup>43</sup>. De allí, que teniendo en cuenta que el presente estudio es *in vitro*, se enmarcó en el cumplimiento de los protocolos microbiológicos requeridos para evitar la contaminación y tener un medio estéril, en donde sólo se encontró la bacteria a trabajar.

Cabe resaltar que existen variaciones con respecto a las condiciones reales, debido a que, *E. faecalis* es capaz de suprimir el crecimiento de otras bacterias, lo que explica su capacidad de crecer como una mono infección, reportándose una prevalencia entre el 22% y 77% de los casos; se ha demostrado que una variedad de microorganismos pueden permanecer en el interior del sistema de conductos aún después del tratamiento, principalmente en el tercio apical, debido a variaciones anatómicas como istmos, conductos laterales, accesorios, deltas apicales<sup>44</sup>.

La instauración de una infección perirradicular persistente puede ser otro factor causante de fracaso en retratamientos de conductos, siendo elementos contribuyentes las infecciones intrarradiculares,

extrarradiculares, reacción a cuerpo extraño, y los quistes que contienen cristales de colesterol. En general se cree que la causa principal del fracaso es la supervivencia de los microorganismos en la parte apical de la raíz del diente obturada<sup>45</sup>.

Las técnicas de asepsia tienen un papel importante en el tratamiento endodóntico. Este es el caso de los conos de gutapercha que se proveen de forma estéril, sin embargo, cuando se abre el paquete, se ven expuestos, contaminándose con bacterias y esporas del medio<sup>46</sup>. Esto quiere decir que, a pesar de que los conos de gutapercha son fabricados bajo condiciones asépticas y poseen propiedades antimicrobianas, especialmente debido a su componente de óxido de zinc, éstos pueden estar contaminados durante la manipulación, adicionalmente por aerosoles y fuentes físicas durante el proceso de almacenamiento<sup>47</sup>. En este marco, Gordillo *et al.* evaluaron la contaminación microbiana en conos de gutapercha de empaques sellados, obteniendo como resultados que el 7,1% de éstos no se encontraban estériles, el 83,3% de las bacterias encontradas fueron Bacilos y el 16,7% fueron Cocos; de los cuales 16,67% fueron Gram negativos y 83,33% Gram positivos; concluyendo que los conos de gutapercha de empaques sellados no se encontraban estériles, siendo necesaria la desinfección de los conos de gutapercha antes de su uso con el paciente<sup>48</sup>.

De allí que, es necesario que los conos de gutapercha se mantengan libres de microorganismos patógenos debido a que la terapia de endodoncia es principalmente un procedimiento de descontaminación con el fin de impedir la difusión de microorganismos en todo el sistema de conductos y los tejidos periapicales<sup>47</sup>. Es así que, existen estudios como el de Senia *et al.* donde se utilizaron conos de gutapercha contaminados con cultivos puros de *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium xerosis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* y *Bacillus subtilis*, demostrando que los conos de gutapercha pueden ser esterilizados, en todos los casos, por un tiempo de inmersión de un minuto en Clorox sin diluir<sup>49</sup>. Así

mismo, Higgins *et al*, realizó un estudio para determinar si es necesario, efectivo y seguro el uso de polvo de paraformaldehído durante el almacenamiento estéril de los conos de gutapercha, determinando que este método de "almacenamiento estéril" debe ser suspendido y las acciones deben dirigirse a la prevención de la contaminación de los conos durante la transferencia desde el almacenamiento hasta la obturación<sup>50</sup>.

En una endodoncia se utilizan además puntas de papel, que son uno de los materiales endodónticos que contienen celulosa, capaces de generar reacciones a cuerpo extraño, las cuales al ser expulsadas a los tejidos periapicales no pueden ser degradadas por las células de defensa, induciendo una respuesta inflamatoria persistente<sup>42</sup>. Con respecto a este material, Rodríguez *et al*. evaluaron el estado de contaminación del papel absorbente de endodoncia de envases comerciales, logrando obtener como resultado que todos los grupos estaban contaminados por hongos y bacterias<sup>51</sup>.

La asepsia y control microbiológico son esenciales para el éxito en endodoncia. Si la carga biológica (sangre, saliva, y los residuos) no se elimina de los instrumentos endodónticos, cualquier método de esterilización puede ser ineficaz. De tal manera que, la limpieza de las limas durante la instrumentación del canal reduce el riesgo de contaminación cruzada y la susceptibilidad de los instrumentos a la separación, aumenta la eficiencia de corte y el desbridamiento del canal<sup>52</sup>. Teniendo en cuenta esto, Hurtt *et al*. analizaron diferentes métodos de esterilización de limas para determinar el mejor método para proporcionar esterilización a la lima completa, incluyendo el eje de metal y mango de plástico, determinando que sólo el autoclave de vapor produce instrumentos completamente estériles, mientras que soluciones de esterilización y el glutaraldehído sal pueden no ser los métodos de esterilización adecuados para limas manuales de endodoncia<sup>53</sup>.

Finalmente, el presente estudio indica que el hidróxido de calcio, así como la asociación de hidróxido de calcio con omeprazol, inhibe el crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*, sin evidenciarse potencialización con el uso del inhibidor de la bomba de protones, *in vitro*. No obstante, como se hace mención en lo anteriormente expuesto, las causas pueden ser diversas. De allí que, es preciso destacar que investigaciones adicionales siguen siendo necesarias para verificar que estos resultados también se producirán en el complejo sistema de conductos radiculares.

## VI. CONCLUSIONES

El efecto *in vitro* de la medicación de hidróxido de calcio con omeprazol, inhibió el crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*, sin evidenciarse potencialización con el uso del inhibidor de la bomba de protones.

El efecto *in vitro* de la medicación de hidróxido de calcio con omeprazol, a las concentraciones de 64, 32, 16, 8 mg/ml inhibió el crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*.

El efecto *in vitro* de la medicación de hidróxido de calcio a las concentraciones de 64, 32, 16, 8 mg/ml inhibió el crecimiento bacteriano del *Enterococcus faecalis*.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Se sugiere realizar estudios utilizando métodos de biología molecular para establecer con mayor precisión el efecto bactericida del sinergismo del Hidróxido de calcio con un inhibidor de la bomba de protones, capaz de alterar la membrana celular bacteriana.

Al ser un experimento *in vitro*, ensayos clínicos aleatorizados siguen siendo necesarias para verificar que estos resultados también puedan producirse en el complejo sistema de conductos radiculares.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Athanassiadis B, Abbott P, Walsh L. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J Supple.* 2007; 52:1.
2. Rodríguez L, Pumarola J, Canalda C. Acción antimicrobiana *in vitro* de distintas medicaciones sobre *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israelii*. *Rev Endod Chile.* 2009; 27:1.
3. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E, Briceño E. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta Odon Venezolana.* 2009; 47: 1.
4. Colán P, García C. Microfiltración apical *in vitro* de tres cementos utilizados en la obturación de conductos radiculares. *Rev Estomatol Herediana.* 2008; 18(1): 9-15.
5. Meirelles D. Potencialização da ação do hidróxido de cálcio pelo inibidor da bomba de prótonsomeprazol sobre o *Enterococcus faecalis* [Tesis doctoral]. Porto Alegre: 2012.
6. Lana P, Scelza M, Silva L, Mattos A, Hirata JR. Antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes on *Enterococcus faecalis* cultivated in root canal systems. *Braz Dent J.* 2009; 20(1): 32-6.
7. Tello J. Efecto *in vitro* del yoduro de potasio yodado al 2% posterior a la preparación quimiomecánica en conductos radiculares infectados con *Enterococcus faecalis* [Tesis para optar por el Grado de Bachiller]. Lima: 2008.
8. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E, Briceño E. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta Odon Venezolana.* 2009; 47: 1.
9. Siqueira J, Uzeda M. Intracanal medicaments: Evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod.* 1997; 23(3): 167-9.
10. Evans M, Davies J, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2002; 35(3): 221.
11. Ramón J. Difusión de iones hidroxilo y calcio de la pasta de hidróxido de calcio químicamente puro con el gel de Aloe vera como medicamento intraconducto. [Tesis para optar por el Grado de Bachiller]. Lima: 2004.
12. Evans M, Craig J, Khemaleelakul S, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod.* 2003; 29 (5): 338-9.
13. Chávez de Paz L, Dahlén G, Molander A, Möller A ,Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2003: 500-8.
14. Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis*: the root canal survivor and “star” in post-treatment disease. *Endod Topics.* 2003; 6: 135-59.

15. Stuart C, Schwarts S, Breeson T, Owatz C. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006; 32(2): 2.
16. Calderón V, Ximénez L, Chávez E. Estudio comparativo in vitro de la capacidad antibacteriana de la clorhexidina, hidróxido de calcio y yoduro de potasio yodado contra *Fusobacterium nucleatum*. *Rev Odont Mexicana.* 2007; 11(1): 30-7.
17. Herrera D, Tay L, Kose Jr, Andrade T, Rezende E, Kozlowski Jr V, *et al.* Efecto antibacteriano del hidróxido de calcio y yodoformo sobre *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Estomatol Herediana.* 2008; 18(1):5-8.
18. Delgado R. Antimicrobial Effects of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2010;36(8): 138.
19. Eun J. Calcium Hydroxide inactivates lipoteichoic acid from *Enterococcus faecalis* through deacylation of the lipid moiety. *J. Endod.* 2011; 37(2): 191.
20. Cohen S, Hrgrevesk V. *Vías de la pulpa.* 9a ed. España: Mosby; 2008.
21. Corredor C, Torres A. *Microbiología de las lesiones pulpares [Tesis doctoral].* Bogotá: 2009.
22. De Lima M. *Endodoncia de la biología a la técnica.* Venezuela: Amolca; 2009.
23. Leonardo M. *Tratamiento de conductos radiculares. Principios técnicos y biológicos.* 2a ed. Sao Paulo: Artes Médicas; 2005.
24. Teixeira R, Cortés E. Estado actual de la indicación de antimicrobianos para la medicación intracanal. *Acta Odontol Venez [serie en Internet].* Mayo 2005 [citado 11 Nov 2012 ]; 43(2): 177-180. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-63652005000200014&lng=es](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652005000200014&lng=es)
25. Soares I, Golberg F. *Endodoncia.: Técnicas y fundamentos.* Buenos Aires: Médica Panamericana; 2007.
26. Oscanoa T. Seguridad de los Inhibidores de la bomba de protones. *Rev. Gastroenterol.* 2011; 31(1): 2-7.
27. Echevarría M, Pereira J, Torralba M, Arriola G, Dávila M, Mateos J, *et al.* Evaluación del uso de los inhibidores de la bomba de protones en un servicio de medicina interna. *Rev Esp Enferm Dig.* 2008; 100(2): 76-81.
28. Katzung B. *Basic and clinical pharmacology drugs used in the treatment of gastrointestinal diseases .*9a ed. España: McGraw-Hill; 2007.
29. Romero M, Berenguer J. Indicaciones actuales de los inhibidores de la bomba de protones. *Rev clin Esp.* 2003; 203(3): 136.
30. Page P. *farmacología integrada.* España: Harcourt Brace; 1998.
31. Molero R, Sacristán M, López C, Mangues I, Socias M, Piñed G. Utilización terapéutica del omeprazol. *Farm Hosp.* 1997; 21 (5): 243-256.
32. Gennaro A. *Remington: Farmacia.* 20a ed. Buenos Aires: Panamerica; 2003.



33. Wagner C, Barth V, Oliveira S, Campos M. Effectiveness of the proton pump inhibitor omeprazole associated with calcium hydroxide as intracanal medication: an in vivo study. *J Endod.* 2011; 37(9):1253-7.
34. Herrera C, López P. Inhibidores de la Bomba de Protones: ¿Cuál Debo Usar? *Bol Farmac de Castilla.* 2007; 8(2): 4-5.
35. Palacios A, Cabezas C, Alarcón J, Arévalo Z, Rodríguez J, Rodríhuez Z, *et al.* Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión. Lima: 2012.
36. Nazar J. Biofilms bacterianos. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello.* 2007; 67: 61-72.
37. Kristich C, Li Y, Cvitkovitch D, Dunny G. Esp-independent biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *Rev. J. Bacteriol.* 2004; 186(1):154-163.
38. Carniol K, Gilmore M. Signal transduction, quorum sensing, and extracellular protease activity in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Rev. J Bacteriol.* 2004 Dic; 186(24): 8161–8163.
39. Desouky S, Nishiguchi K, Zendo T, Igarashi Y, Williams P, Sonomoto K, *et al.* High-throughput screening of inhibitors targeting Agr/Fsr quorum sensing in *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. 2013; 77(5):923-7.
40. Nakayama J, Chen S, Oyama N, Nishiguchi K, Azab E, Tanaka E, *et al.* Revised model for *Enterococcus faecalis fs* quorum-sensing system: the small open reading frame *fsrD* encodes the gelatinase biosynthesis-activating pheromone propeptide corresponding to *Staphylococcal AgrD*. 2006; 188(23):8321-8326.
41. Jamal A, Huang M, Huang D. Biofilm formation by enterococci. *Rev. J Med Microbiol.* 2007 Dic; 56(12):1581-1588.
42. Lodish J, Baltimore A, Berk S, Zipursky P. Matsudaira, J. Darnell. *Molecular Cell Biology.* Scient Amer Books. 1995;
43. Basrani B. Update en Clorhexidina. *Rev. Socendo Chile.* 2009 Sept; (20):6-15.
44. Caviedes J, Guzmán B, Pereira V. Retratamiento Endodóntico no quirúrgico: Criterios reales que definen la necesidad de su aplicación. *Rev. Socendo Chile.* 2010 Oct; (22):6-19.
45. Charles H, Stuart D, Scott A, Schwartz D, Thomas J. Beeson D, *et al.* *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Rev. J Endod.* 2006;32: 93–98.
46. Siqueira J, Da Silva C, Cerqueira M, Lopes H, De Uzeda M. Effectiveness of four chemical solutions in eliminating *Bacillus subtilis* spores on gutta-percha cones. *Rev. Endod Dent Traumatol.* 1998 Jun;14(3):124-6.
47. Gomes B, Vianna M, Matsumoto C, Rossi V, Zaia A, Ferraz C, *et al.* Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Rev. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005 Oct; 100(4):512-7.
48. Gordillo J, Sandoval F, Monar J. Evaluación del grado de contaminación microbiana de conos de gutapercha Presentes en empaques totalmente sellados por el fabricante. *Rev. ADM estudiantil.* 2013; (2):14-17.

49. Senia S, Marrao R, Mitchell J, Lewis A, Thomas L. Rapid sterilization of gutta-percha cones with 5.25% sodium hypochlorite. *Rev J Endod.* 1975; 1(4):136-140.
50. Higgins J, Newton C, Palenik C. The use of paraformaldehyde powder for the sterile storage of gutta-percha cones. *Rev J Endod.* 1986; 13(6):242-248.
51. Rodrigues E, Nabeshima C, Machado M. Analysis of contamination of endodontic absorbent paper points. *Rev Odonto Cienc.* 2011; 26(1):56-60.
52. Saghiri M, Karamifar K, Mehrvazfar P, Asgar K, Gutmann JL, Lofti M, *et al.* The efficacy of foam cleaners in removing debris from two endodontic instruments. *Rev. Quintessence Int.* 2012 Oct; 43(9):811-7.
53. Hurtt C, Rossman L. The sterilization of endodontic hand files. 1996 Jun; 22(6): 321-322.

# **IX. ANEXOS**

## Anexo 1



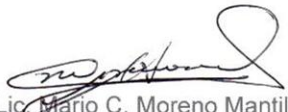
UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA



### CONSTANCIA

El que suscribe Lic. Mario C. Moreno Mantilla jefe del Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Biológicas, dejo constancia que la cepa de *Enterococcus faecalis* ha sido identificada en nuestro laboratorio a solicitud de las Srtas: Padilla Contreras María del Carmen y Roncal Espinoza Rosa Josefina para la ejecución de su trabajo de investigación.

Se expide la presente a solicitud de las interesadas para los fines que crea conveniente.

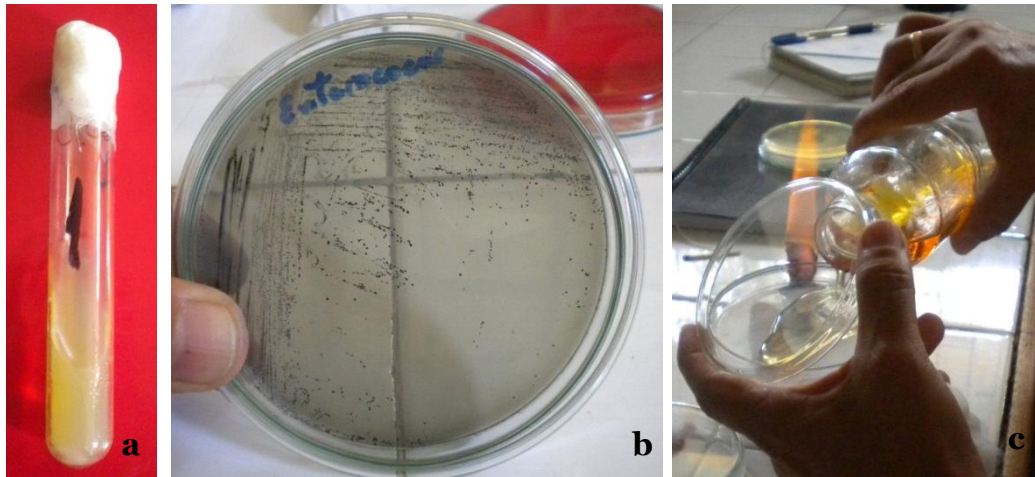
  
Lic. Mario C. Moreno Mantilla  
C.P.B. N° 728



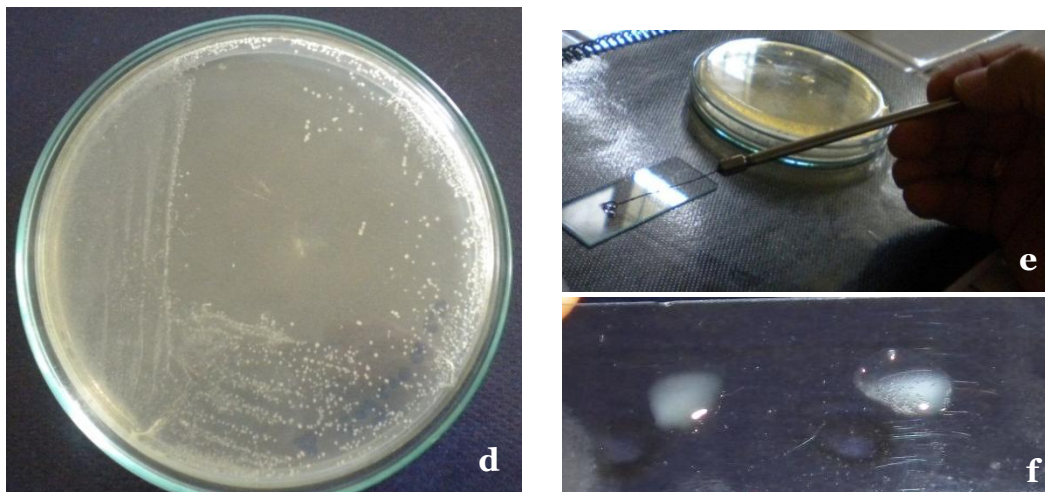
Lambayeque 25 de Abril del 2013

## Anexo 2

### Obtención e identificación de la cepa de *Enterococcus faecalis*



**Fig. a:** Cepa de *Enterococcus faecalis*. **Fig. b:** Crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis* en Agar Enterococo. **Fig. c:** Vertimiento de Sorbitol en placa



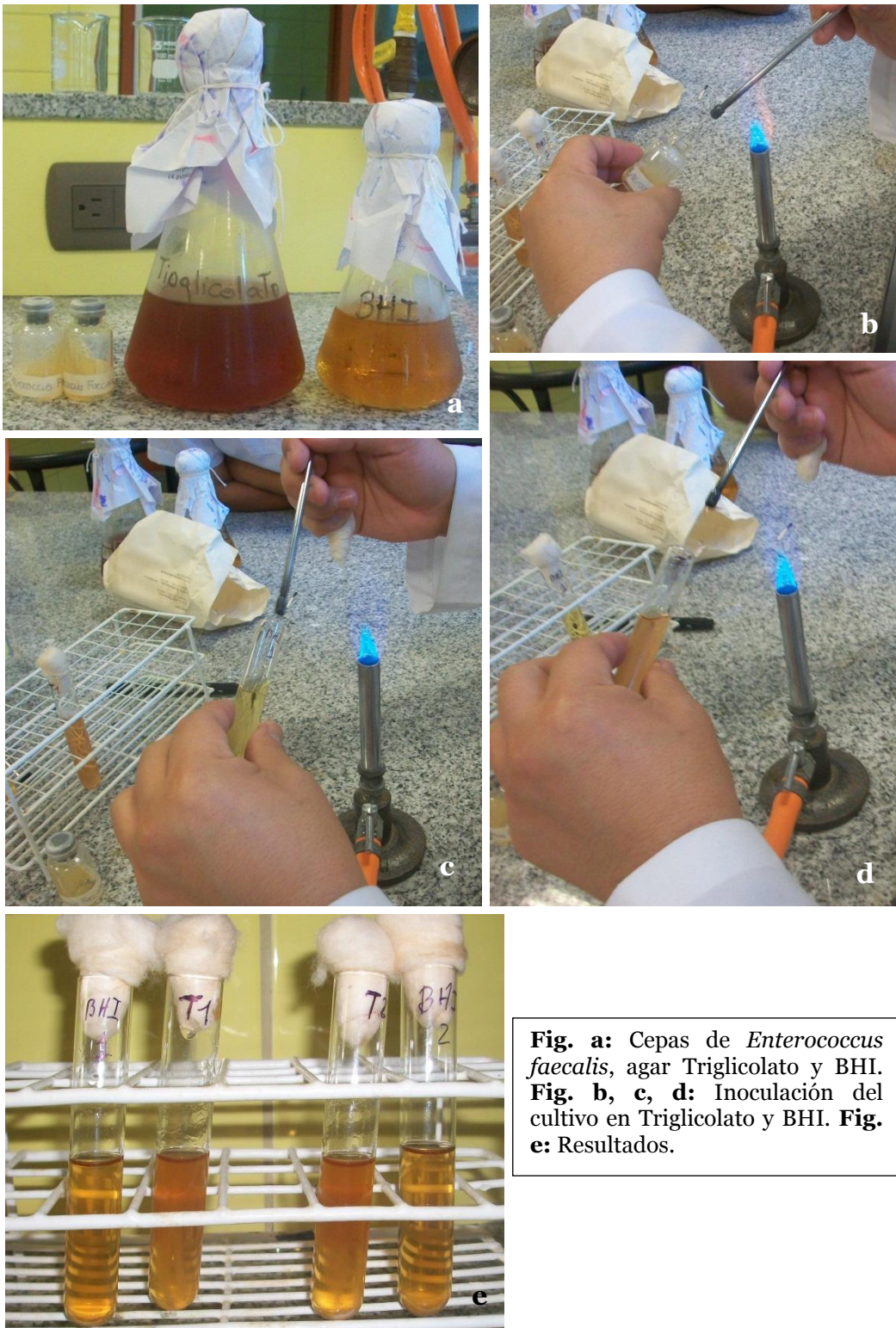
**Fig. d:** Crecimiento bacteriano de *Enterococo* en prueba de Sorbitol. **Fig.e:** Prueba de catalasa. **Fig. f:** Resultado positivo debido a la formación de burbujas.



**Fig. g:** Vertimiento de agar sangre en la placa Petri. **Fig. h:** Solidificación del agar sangre. **Fig. i:** Inoculación del cultivo. **Fig. j:** Obsérvese el crecimiento bacteriano en Agar sangre.

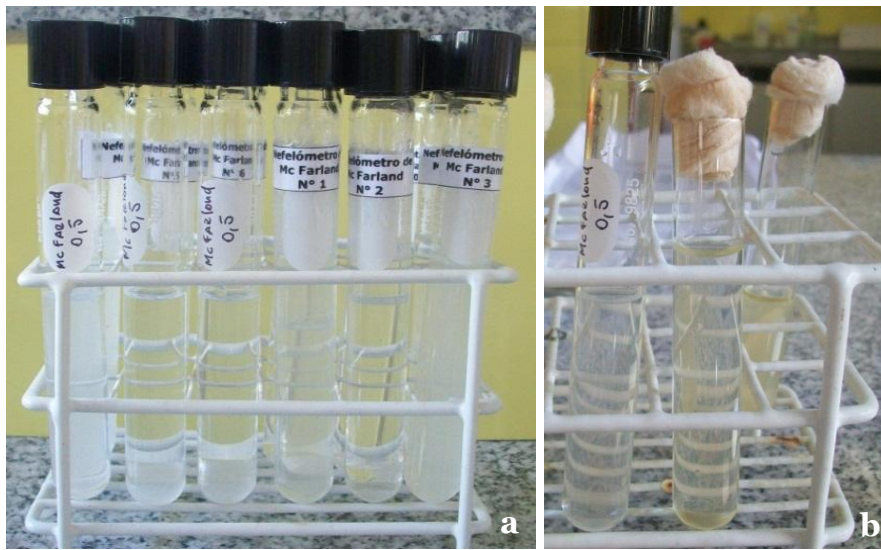


### Anexo 3



**Fig. a:** Cepas de *Enterococcus faecalis*, agar Triglicolato y BHI. **Fig. b, c, d:** Inoculación del cultivo en Triglicolato y BHI. **Fig. e:** Resultados.

## Anexo 4



**Fig. a:** Escala de McFarlang. **Fig. b:** Ajuste del cultivo al 0,5 de la escala de McFarland.

## Anexo 5



**Fig. a:** Diluciones hasta  $10^{-5}$  **Fig. b:** Proceso de dilución realizado con la micropipeta.

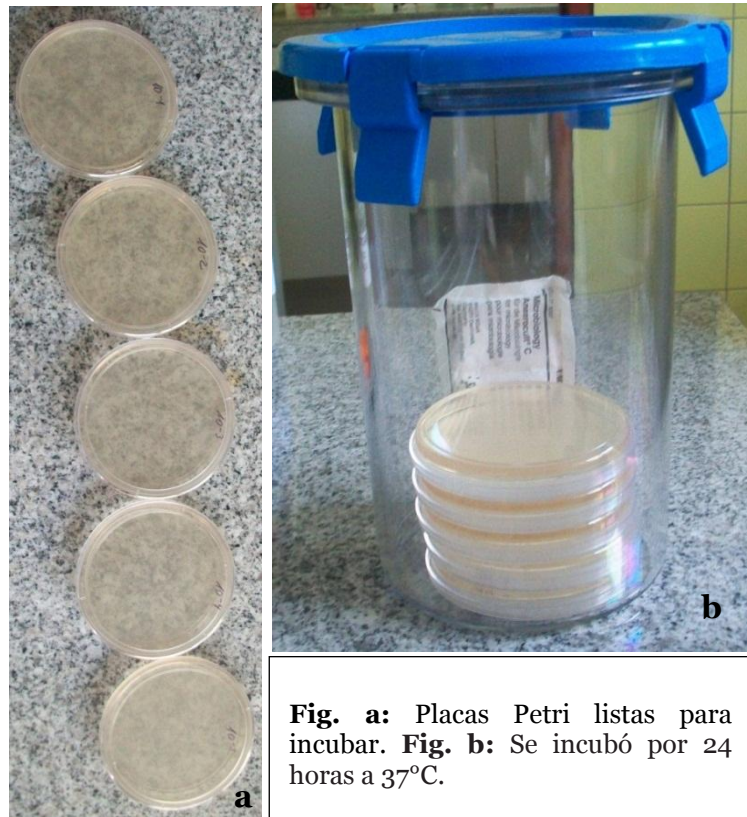


## Anexo 6



**Fig. a:** Placas Petri rotuladas según la dilución. **Fig. b:** Proceso de dilución realizado con la micropipeta. **Fig. c:** Cultivo del *Enterococcus faecalis* en el agar Plate – Count a través de la técnica de placa vertida.

## Anexo 7



**Fig. a:** Placas Petri listas para incubar. **Fig. b:** Se incubó por 24 horas a 37°C.

## Anexo 8



**Fig. a:** Balanza analítica **Fig. b:** Recipientes conteniendo hidróxido de calcio, según las concentraciones requeridas, previamente pesado en la balanza analítica.

## Anexo 9



**Fig. a:** Grupo de matraces con hidróxido de calcio a concentraciones de 64, 32, 16, 8 mg/ml **Fig. b:** Grupo de matraces con hidróxido de calcio, a los cuales se les agregó 0, 512 mg de omeprazol a cada uno.



## Anexo 10



**Reconstitución:** Añadir 40 g del polvo en 1 litro de agua destilada. Dejar embeber y llevar a ebullición hasta disolver totalmente el agar. Esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C.

**Zubereitung:** 40 g des Pulvers in 1 L in destilliertes Wasser geben. Vollständig auflösen lassen und zum Sieden bringen, bis zur vollständigen Auflösung des Agars. Sterilisieren per Autoklave (15 Min. bei 121°C).

**Préparation:** Ajouter 40 g à un litre d'eau distillée. Laissez imbiber et porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Steriliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

**Istruzioni:** Sospendere 40 g in 1 L di acqua distillata. Lasciare imbevare e portare a ebollizione fino a completa soluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per minuti 15.

**b**



**Fig. a:** TSA: Medio de cultivo usado. **Fig. b:** Composición y forma de dilución del medio de cultivo. **Fig. c:** Se pesó 4 g de TSA para cada matraz. **Fig. d:** Vertimiento del medio de cultivo en los 8 matraces.

## Anexo 11



**Fig. a:** Medición del agua destilada utilizando para ello un matraz. **Fig. b:** Vertimiento del agua destilada en cada uno de los recipientes. **Fig. c:** Recipientes preparados con los medicamentos y el agua destilada.

## Anexo 12



**Fig. a:** Autoclave. **Fig. b:** Recipientes dispuestos en el interior del autoclave para su respectiva esterilización.

## Anexo 13



**Fig. a:** Conteo de Unidades formadoras de colonias.

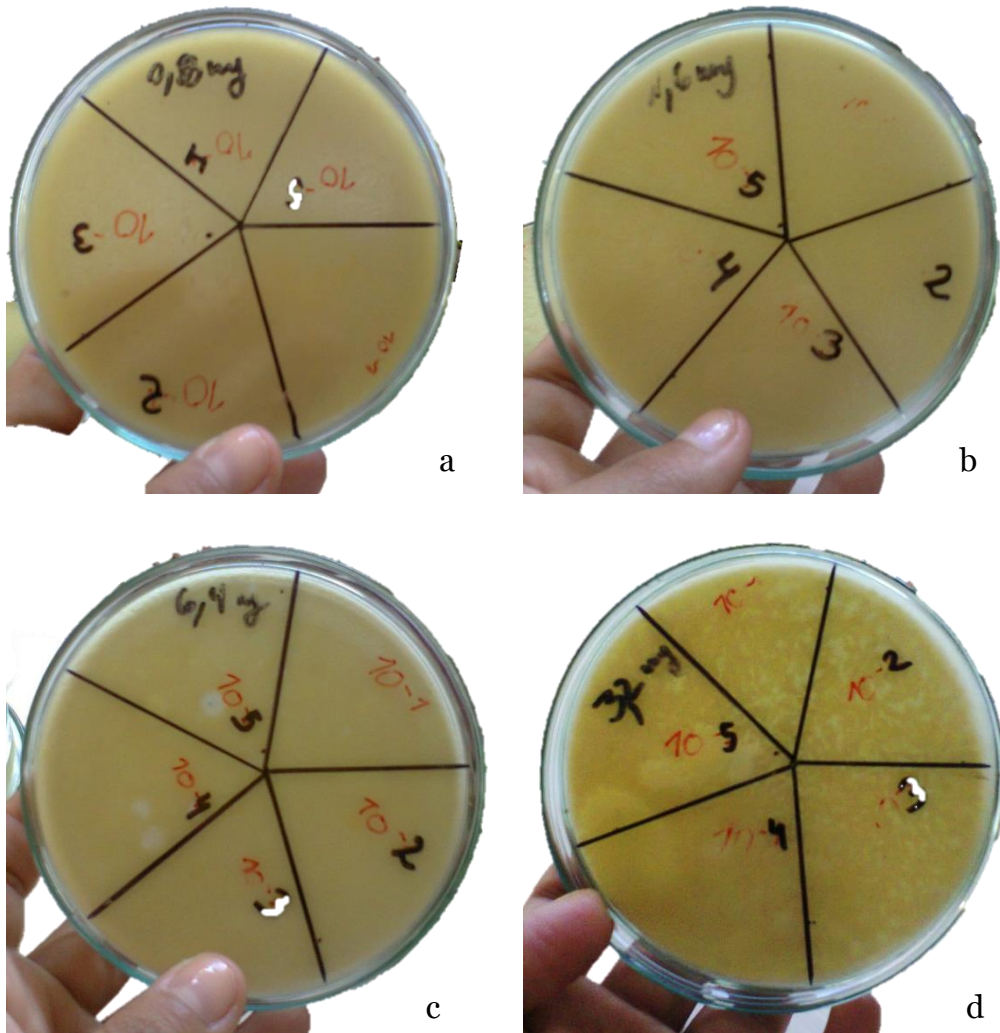


## Anexo 14



**Fig. a:** Recipientes después de la esterilización. **Fig. b:** Vertimiento del contenido de los recipientes en una placa Petri cada uno. **Fig. c:** Extracción del inóculo del *Enterococcus faecalis*. **Fig. d:** Siembra de la bacteria en las placas Petri.

## Anexo 15



**Lectura de una de las repeticiones del grupo de Hidróxido de calcio. Fig.a:** Placa Petri con 0,8 mg de hidróxido de calcio. **Fig. b:** Placa Petri con 1,6 mg de hidróxido de calcio. **Fig. c:** Placa Petri con 6,4 mg de hidróxido de calcio. **Fig. d:** Placa Petri con 3,2 mg de hidróxido de calcio.





**UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTO TORIBIO DE  
MOGROVEJO  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE ODONTOLOGÍA**

EFECTO *IN VITRO* DE LA MEDICACIÓN INTRACONDUCTO  
HIDRÓXIDO DE CALCIO CON OMEPRAZOL FRENTE AL  
CRECIMIENTO BACTERIANO DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

**Anexo 16**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**I. DATOS**

**CEPA:** *Enterococcus faecalis*

**Fecha de obtención de la muestra:** 20/06/2013

**Fecha de evaluación:** 20/06/2013

<i>Enterococcus faecalis</i>			
Nº Tubo	Dilución	Nº de colonias por placa	UFC total
1	10 <sup>-1</sup>	5	5
2	10 <sup>-2</sup>	1	1
3	10 <sup>-3</sup>	2	2
4	10 <sup>-4</sup>	14	14
5	10 <sup>-5</sup>	37	37

**Tipo de asociación:**

Hidróxido de calcio

**Fecha de obtención de la muestra:** 04/07/1013

**Fecha de evaluación:** 05/07/1013

Hidróxido de calcio		
CONCENTRACIONES	Nº de colonias por placa	UFC total
8 mg/ml	0	0
16 mg/ml	0	0
32 mg/ml	0	0
64 mg/ml	0	0

**Tipo de asociación:**

Asociación de hidróxido de calcio con omeprazol

**Fecha de obtención de la muestra:** 04/07/1013**Fecha de evaluación:** 05/07/1013

ASOCIACIÓN DEL HIDROXIDO DE CALCIO CON OMEPRAZOL		
CONCENTRACIONES	Nº de colonias por placa	UFC total
64/0.512 ml	0	0
32/0.512 ml	0	0
16/0.512 ml	0	0
8/0.512 ml	0	0