

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

ESPECIALIDAD EN ESTOMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

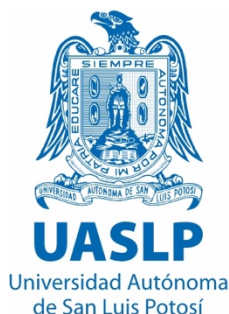
TESIS DE ESPECIALIDAD

**“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA CAPACIDAD
ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA
PASTA CTZ EN LA INHIBICIÓN DE TRES CEPAS. MODELO IN
VITRO”**

C.D. ALONDRA ISABEL URIBE TRANCOSO

San Luis Potosí, S. L. P., México

10 de Noviembre de 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

ESPECIALIDAD EN ESTOMATOLOGÍA PEDIATRÍA

TESIS DE ESPECIALIDAD

**“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA CAPACIDAD
ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA
PASTA CTZ EN LA INHIBICIÓN DE TRES CEPAS. MODELO IN
VITRO”**

C.D. Alondra Isabel Uribe Trancoso

DIRECTOR DE TESIS

P.H.D. José Arturo Garrocho Rangel

CO-DIRECTOR

P.H.D Diana María Escobar García

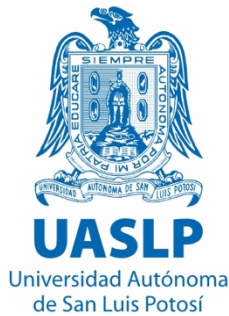
ASESORES

P.H.D. Martha Gabriel Chuc Gamboa

Dra. Daniela Guzmán Uribe

San Luis Potosí, S. L. P., México

10 de noviembre de 2023



ESPECIALIDAD EN ESTOMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

TÍTULO DE TESIS

**“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA CAPACIDAD
ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA
PASTA CTZ EN LA INHIBICIÓN DE TRES CEPAS. MODELO IN
VITRO”**

PRESENTA

C.D. Alondra Isabel Uribe Trancoso

FIRMAS

Director de Tesis

P.H.D. José Arturo Garrocho Rangel

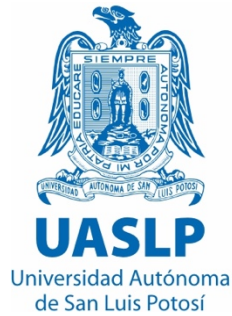
Co-director

P.H.D. Diana María Esobar García

Asesores

P.H.D. Martha Gabriel Chuc Gamboa.

Dra. Daniela Guzmán Uribe.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
ESPECIALIDAD EN ESTOMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

TÍTULO DE TESIS

**“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA CAPACIDAD
ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA
PASTA CTZ EN LA INHIBICIÓN DE TRES CEPAS. MODELO *IN
VITRO*”**

PRESENTA

C.D. Alondra Isabel Uribe Trancoso

Sinodales

M. en C. Mauricio Pierdant Pérez

PRESIDENTE

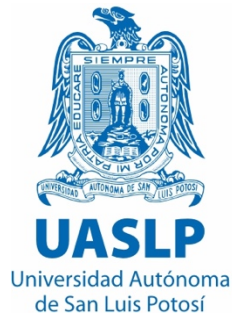
M. en C. Verónica Campos Ibarra

SECRETARIO

Ph. D Yolanda Hernández Molinar

VOCAL

Firmas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
ESPECIALIDAD EN ESTOMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

TÍTULO DE TESIS

**“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA CAPACIDAD
ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA
PASTA CTZ EN LA INHIBICIÓN DE TRES CEPAS. MODELO *IN
VITRO*”**

PRESENTA

C.D. Alondra Isabel Uribe Trancoso

Dr. Ricardo Martínez Rider
Director de la Facultad
de Estomatología

Dra. Yolanda Hernández Molinar
Secretaria de Investigación y Posgrados
de la Facultad de Estomatología

Dra. Gabriela Torre Delgadillo
Coordinadora de la Especialidad
en Estomatología Pediátrica

San Luis Potosí, S. L. P., México

10 de Noviembre de 2023



“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA PASTA CTZ EN LA INHIBICION DE TRES CEPAS. MODELO *IN VITRO* © 2023 Por Alondra Isabel Uribe Trancoso. Se distribuye bajo una [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

ÍNDICE

RESÚMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	2
1.1 PULPA DENTAL	4
1.1.1 FUNCIONES	5
1.2 FACTORES ETIOLÓGICOS DE LA ENFERMEDAD PULPAR Y PERIAPICAL	5
1.2.1 FACTORES BACTERIANOS	5
1.2.2 FACTORES TRAUMÁTICOS:	5
1.2.3 FACTORES IATROGÉNICOS:	6
1.2.4 FACTORES IDIOPÁTICOS	6
1.3 CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES PULPARES	6
1.3.1 PULPITIS REVERSIBLE:	6
1.3.2 PULPITIS IRREVERSIBLE:	6
1.3.3 NECROSIS PULPAR:	6
1.4 TERAPIA PULPAR NO VITAL:.....	6
1.4.1 PULPECTOMÍA CONVENCIONAL	7
1.4.2 INDICACIONES:	7
1.4.3 CONTRAINDICACIONES: ⁸⁻¹⁰	7
1.4.4 PULPECTOMÍA NO INSTRUMENTADA	8
1.4.5 INDICACIONES:	8
1.4.6 CONTRAINDICACIONES: ⁸⁻¹⁰	9
1.5 VÍAS DE INVASIÓN BACTERIANA	9
1.6 MICROORGANISMOS QUE SE ENCUENTRAN EN LA PULPA NECRÓTICA.....	9
1.7 MEDICACIÓN INTRACONDUCTO.....	10
1.7.1 TIPOS DE MEDICAMENTO INTRACONDUCTO.....	11
1.7.2 OBTURACIÓN RADICULAR.....	11
1.7.3 CARACTERÍSTICAS IDEALES DE UN MATERIAL DE OBTURACIÓN EN DIENTES TEMPORALES. ¹⁴⁻¹⁷	11
1.8 MATERIALES DE OBTURACIÓN EN TRATAMIENTOS PULPARES DE PIEZAS DECIDUAS ..	12
1.8.1 PASTA DE ÓXIDO DE ZINC EUGENOL	12
1.8.2 PASTAS A BASE DE YODOFORMO	13
1.8.4 PASTAS A BASE DE HIDRÓXIDO DE CALCIO	13
1.9 MATERIALES EMPLEADOS PARA LA TÉCNICA NO INSTRUMENTADA	14
1.9.1 PASTA CTZ.....	14
1.9.2 COMPONENTES:.....	14
1.9.3 TETRACICLINA: (CAPSULA DE 500MG):	14
1.9.4 MECANISMO DE ACCIÓN	15
1.9.5 CONTRAINDICACIONES:	15

1.9.6 CLORANFENICOL:	15
1.9.7 MECANISMO DE ACCIÓN	15
1.9.8 CONTRAINDICACIONES:	16
1.9.9 ÓXIDO DE ZINC- EUGENOL (1000MG, 1 GOTTA EUGENOL).....	16
1.9.10 MECANISMO DE ACCIÓN DEL ÓXIDO DE ZINC:	16
1.9.11 MECANISMO DE ACCIÓN DEL EUGENOL:	16
1.9.12 VENTAJAS DE LA PASTA CTZ ²⁰⁻²² :	17
1.9.13 DESVENTAJAS DE LA PASTA CTZ.....	17
1.9.14 INDICACIONES DE LA PASTA CTZ: ²⁰⁻²²	17
1.10 PASTA 3 Mix-MP:.....	17
1.10.1 COMPOSICIÓN	18
1.11 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA	18
1.11.1 FUNDAMENTO	18
1.11.2 CONCENTRACIÓN INHIBITORIA 50 (CI ₅₀)	19
2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	20
2.1 JUSTIFICACIÓN	20
3. HIPÓTESIS	21
4. OBJETIVO GENERAL	21
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
5. MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1 LUGAR DE REALIZACIÓN	22
5.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	22
5.3 MUESTREO (MÉTODO DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA)	22
5.3.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA	22
GRUPO DE ESTUDIO	22
5.5 DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL DE LAS VARIABLES	24
5.6 ELABORACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO:	25
5.6.1 PREPARACIÓN DE CALDO (SOYA TRIPTICASEÍNA)	25
5.6.2 PREPARACIÓN DE AGAR (MUELLER HINTON), PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.	25
5.7 REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS.....	25
5.7.1 REACTIVACIÓN DE CEPAS BACTERIAS PURAS EN MEDIO (BACTERIAS PARA EL INÓCULO).....	26
5.7.2 DILUCIONES DE EL ANTIBIÓTICO DE LA PASTA CTZ	26
5.8 MEDICIÓN ESCALA DE MC FARLAND:.....	27
5.9 DETERMINACIÓN DE LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO EN CALDO CMI.....	27
5.10 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA POR MEDIO DE RECuento BACTERIANO POR GOTEo EN PLACA CMB	28
5.11 CONTEo UFC:	28
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	28
6.1 MÉTODo:	28
7. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	28
7.1 GRADo DE RIESGo DEL ESTUDIo (DE ACUERDo CON LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE INVESTIGACIÓN).....	28

7.2 COMPROMISO DE APLICACIÓN DE LAS NORMAS INTERNACIONALES A LOS PROCEDIMIENTOS CLÍNICOS Y DE LABORATORIO.	29
7.3 MANEJO DE RESIDUOS BIOLÓGICO INFECCIOSOS Y AMBIENTALES.	29
7.4 MANEJO DE LAS NORMAS DE BIOSEGURIDAD, ESPECIALMENTE REFERENTES A LA PANDEMIA	30
7.5 FUENTE DE FINANCIAMIENTO	30
7.6 DIFUSIÓN ESPERADA DE LOS RESULTADOS	30
8.1 MEDICIÓN UFC	35
9. DISCUSIÓN	37
10. NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN	42
11. CONCLUSIONES.	42
12. BIBLIOGRAFÍA.	43
13. ANEXO 1. CARTA DE ACEPTACIÓN POR EL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN. ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	

Resumen

Introducción: Los órganos dentarios son afectados por diferentes razones, llegando a evolucionar hasta un estado de necrosis pulpar. Estos órganos pueden ser tratados con métodos de terapia pulpar no instrumentada utilizando pastas antibiótica, como la CTZ.

Objetivo: el propósito de este estudio fue evaluar la eficacia antimicrobiana de la pasta CTZ en concentraciones más bajas a las recomendadas clínicamente.

Materiales y Métodos: Se evaluó la Concentración Mínima Inhibitoria de la pasta CTZ sobre tres cepas bacterianas ATCC: *E. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus*, utilizando la técnica de inhibición de crecimiento en caldo y posteriormente determinar la concentración mínima bactericida con el uso de la técnica de recuento bacteriano por goteo en placa. Se realizaron seguimientos de crecimiento bacteriano durante 24 horas de cultivo utilizando 8 repeticiones para cada dilución. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SIGMA PLOT mediante análisis de varianza (ANOVA) y Tukey.

Resultados: El estudio de la prueba de medias determinó que 3 concentraciones (0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL y 0.3 mg/mL) de CTZ utilizadas para *E. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus* mostraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) comparadas con el grupo control. La concentración mínima inhibitoria de las diferentes cepas, se encontraron para *E. faecalis* en la dilución de 0.05 mg/mL, para *E. coli* 0.1 mg/mL y para *S. aureus* 0.1 mg/mL.

Conclusion: De acuerdo con las condiciones en que se realizó el estudio, podemos decir que la pasta CTZ tiene capacidad antimicrobiana desde la concentración de 0.05 mg/ml en todas las bacterias analizadas.

1. Introducción y Antecedentes

Los órganos dentales en la dentición decidua se consideran de vital importancia debido a su contribución en diferentes funciones, como la masticación, la fonación y la estética. Además, al mismo tiempo que sirven de guía en la erupción de la segunda dentición, también conservan el espacio de los dientes permanentes. Los dientes primarios pueden sufrir diversos problemas, como caries, lesiones, traumatismos o fracturas, que los afectan negativamente. En la actualidad, la caries en los dientes primarios es vista como uno de los problemas de salud oral más importantes. Cuando la enfermedad está en sus etapas avanzadas, puede causar una pulpitis irreversible y, como resultado, una necrosis pulpar. En estos casos, se recomienda como tratamiento de elección la pulpectomía, que está indicada en dientes primarios con exposiciones pulpares cariadas.^{1, 2}

La pulpectomía tiene como objetivo principal eliminar cualquier infección presente en las piezas temporales que se encuentran en la boca. En la pulpectomía convencional, se lleva a cabo una serie de pasos que incluyen la limpieza, irrigación y obturación de los conductos radiculares con un material de relleno. Este procedimiento puede ser considerado complejo debido a las diversas etapas que se deben llevar a cabo, como la administración de anestesia, el aislamiento absoluto, la instrumentación y conformación de los conductos, entre otros. Además de lo mencionado anteriormente, resulta crucial examinar la anatomía y las condiciones clínicas de los conductos necróticos, así como las restricciones que existen en el acceso a los instrumentos e irrigantes. Se hace necesario colocar un medicamento intraconducto con alto poder antimicrobiano para asegurar un adecuado nivel de desinfección de los conductos o canales radiculares. Este medicamento debe ser capaz de seguir eliminando bacterias incluso después de finalizar el procedimiento.²⁻⁴

Además, se encuentra la técnica de la terapia pulpar no instrumentada NIET (Non Instrumental Endodontic Treatment en inglés). En este método, se utilizan pastas que contienen sustancias antimicrobianas y se aplican en la entrada de los conductos

radiculares. Este tratamiento sigue el enfoque de esterilización de lesiones y reparación de tejidos, conocido como LSTR (Lesion Sterilization Tissue Repair en inglés), que se basa en la capacidad de reparar los tejidos dañados una vez que han sido desinfectados. Aunque esta técnica se ha practicado durante más de 25 años en Japón, Brasil y otros países, recientemente la AAPD (American Academy of Pediatric Dentistry) publicó en 2022 una guía clínica sobre terapia pulpar para dientes primarios y permanentes jóvenes. En dicha guía, se reconoce esta técnica como una opción útil en endodoncia pediátrica para tratar dientes primarios inflamados o necróticos irreversibles, siempre y cuando se cumplan varios criterios de diagnóstico. ¹⁻⁴

Hoy en día, una de las pastas más comúnmente usadas es la CTZ, una pasta antibiótica que combina cloranfenicol, tetraciclina, óxido de zinc y eugenol. La ventaja de esta pasta es su facilidad y rapidez de manipulación, además de ofrecer resultados clínicos y radiográficos excelentes. ¹⁻⁴

Los microorganismos anerobios, como *porphyromonas* y *prevotella*, junto con bacilos pigmentados, aerobios y estreptococos, infectan los conductos radiculares con pulpas necróticas. Entre las especies más comunes se encuentran *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas nigrescens*, *Fusobacterium alocis*, *Treponema forsythia* y *Enterococcus faecalis*. Este último microorganismo tiene la capacidad de colonizar áreas que normalmente no son alcanzadas por los instrumentos durante la desbridación del tejido pulpar, lo cual puede afectar el tratamiento endodóntico. Así que, se encuentra una justificación para utilizar antibióticos combinados. Se ha descubierto evidencia de que al colocar estas pastas en el piso de la cámara pulpar, se logra eliminar las bacterias presentes en el sistema de conductos radiculares sin necesidad de preparar el conducto previamente. ²⁻⁴

Durante muchos años, han sido utilizados diferentes materiales en el tratamiento de dientes primarios afectados. Hasta el presente momento, no ha sido descubierto un material capaz de satisfacer todas las características ideales necesarias. Existen varios tipos de materiales utilizados en el proceso, como por ejemplo: pastas

fabricadas a partir de óxido de zinc (pastas de óxido de zinc y eugenol, Endoflas, óxido de zinc con propóleo); pastas hechas con yodoformo (Vitapex, Metapex); y pastas elaboradas con hidróxido de calcio.²⁻⁴

El material de obturación ideal para ser empleado en la dentición primaria debería poseer características como ser biocompatible, ser capaz de neutralizar los productos tóxicos de las bacterias y prevenir la reinfección de los conductos para crear un ambiente que ayude en el proceso de reparación. También es deseable que se reabsorba al mismo tiempo de la exfoliación fisiológica de las raíces del diente primario y rápidamente si sobrepasa el ápice radicular, poder adherirse a las paredes del conducto sin contraerse y sin fraguar a un cemento duro, ser radiopaco y no cambiar el color del diente ni dañar los tejidos periapicales ni el desarrollo o erupción del diente permanente.²⁻⁴

El propósito de la obturación es lograr un sellado impermeable que permita defenderse contra la microflora cambiante de la cavidad bucal evitando la reinfección y permita mantener el diente en funcionamiento hasta su recambio fisiológico.²⁻⁴

1.1 Pulpa dental

La pulpa es un tejido conectivo altamente vascularizado e innervado que se encuentra en la cámara pulpar. En este tejido encontramos diferentes tipos de células, como son los fibroblastos, odontoblastos, histiocitos, macrófagos, mastocitos y células plasmáticas. Además, se encuentra presente en ella una matriz extracelular formada por fibras de colágeno y sustancia fundamental.^{5,6}

Hay dos regiones principales de arquitectura pulpar: la central y la periférica. En la periferia de la pulpa, el área adyacente a la dentina calcificada existe una serie de diferentes capas estructurales. En la interfaz del complejo dentina-pulpa existe una capa de células odontoblásticas columnares, cuya función principal es el desarrollo de la dentina. Aquí, muchos túbulos dentinarios, canales creados por los odontoblastos, se extienden a través de la dentina desde la pulpa hasta el borde del esmalte, cada uno de estos túbulos contiene un proceso odontoblástico, una extensión celular de un

odontoblasto utilizado para formar la dentina, así como líquido dentinario. Al igual que el esmalte, la dentina es avascular y estos túbulos son cruciales para proporcionar una vía de entrada para los nutrientes en el líquido intersticial que se originó en los capilares de la pulpa. Debajo de la capa odontoblástica se encuentra la zona libre de células, o zona de Weil, un área rica tanto en capilares como en redes nerviosas. El compartimento periférico más cercano a la zona central es la zona rica en células, una capa rica en fibroblastos y células mesenquimales indiferenciadas que funciona apoyando la población de odontoblastos por proliferación y diferenciación. Esta capa de células también puede diferenciarse en fibroblastos y macrófagos.^{5,6}

1.1.1 Funciones

La pulpa tiene cinco funciones principales. Estas funciones incluyen la formación y nutrición de la dentina, así como la inervación, defensa del diente e inducción durante el proceso de odontogénesis. La formación de dentina es una función crítica desempeñada por la pulpa dental, y como se mencionó anteriormente, está llevada a cabo por los odontoblastos. Además de su función en el soporte de la dentina con humedad y nutrientes como la albúmina, la transferrina, la tenascina y otros proteoglicanos, la pulpa desempeña un papel nutritivo.^{5,6}

1.2 Factores etiológicos de la enfermedad pulpar y periapical

1.2.1 Factores bacterianos: Los factores bacterianos son una de las principales causas de la enfermedad endodóntica. Las bacterias y sus productos pueden acceder a la pulpa de varias formas, como la caries dental, problemas periodontales, traumatismos, filtración marginal, anomalías de desarrollo y a través de la circulación sanguínea. La pulpa responde a la caries mediante la inflamación debido a la permeabilidad de los tubos dentinarios.^{6,7}

1.2.2 Factores traumáticos: Los traumatismos, como golpes o accidentes, pueden provocar diferentes respuestas en la pulpa dental. En algunos casos, se curan sin dejar ningún tipo de secuela, pero también existe la posibilidad de que se produzca una necrosis. Los traumatismos que resultan en una exposición de la pulpa dental o la

dentina son la causa de la inflamación, ya que esto permite la entrada de bacterias a la pulpa. En los casos en los que el traumatismo no provoca una exposición de la pulpa, pero sí causa necrosis pulpar, las bacterias pueden llegar a través de anacoresis.^{6,7}

1.2.3 Factores iatrogénicos: Esta categoría incluye procedimientos restauradores que generan calor y secan los túbulos dentinarios, productos y químicos que al entrar en contacto con la pulpa causan irritación cuando las arterias del canal lateral sufren cambios debido al raspado periodontal y movimientos ortodóncicos.^{6,7}

1.2.4 Factores idiopáticos: Se ha implicado la resorción interna o factores desconocidos que pueden causar enfermedad pulpar o periapical.^{6,7}

1.3 Clasificación de las enfermedades pulpares

1.3.1 Pulpitis reversible: Se trata de un proceso inflamatorio transitorio con dolor agudo pero temporal debido a diversos irritantes externos. Si estos estímulos se tratan a tiempo se puede recuperar la vitalidad de la pulpa.^{6,7}

1.3.2 Pulpitis irreversible: Es una inflamación del tejido pulpar sin capacidad de regenerarse, generalmente causada por una pulpitis reversible no tratada. Las bacterias llegan a la pulpa y se asientan.^{6,7}

La pulpitis irreversible se puede clasificar de dos maneras:

1.3.3 Necrosis pulpar: Es la descomposición séptica o no, del tejido pulpar donde se destruyen los tejidos microvasculares y linfáticos de las células. Se observa un drenaje inadecuado de los líquidos de la inflamación debido a la falta de movimiento lateral, lo que lleva a un aumento de la presión del tejido y una destrucción progresiva hasta que toda la masa se vuelve necrótica.^{6,7}

1.4 Terapia pulpar no vital:

El objetivo del tratamiento de la pulpa no vital para la necrosis pulpar o la pulpitis irreversible es preservar la funcionalidad clínica del diente.^{8,9}

1.4.1 Pulpectomía convencional.

Este tratamiento también es denominado como pulpectomía instrumental y se ofrece desde 1932. Esto aún es debatido por diversas razones, como la irregularidad de la anatomía del conducto radicular, cambios en la apertura apical debido a la reabsorción fisiológica y patológica.⁸⁻¹⁰

Esta técnica tiene como objetivo eliminar las bacterias y sus productos retirando el tejido pulpar con instrumentos, utilizando una lima manual o rotatoria, desinfectando con irrigantes y finalmente sellando los conductos radiculares con un material de obturación biocompatible y reabsorbible.⁸⁻¹⁰

1.4.2 Indicaciones: La pulpectomía está indicada para el tratamiento de un diente con pulpitis irreversible donde la pulpa radicular presenta síntomas clínicos de pulpitis irreversible (síntomas clínicos de hiperemia dental: sangrado continuo durante más de 5 minutos después de la retirada de la pulpotomía pulpar con cámara), o necrosis pulpar. Debería haber poca o ninguna reabsorción radicular.⁸⁻¹⁰

1.4.3 Contraindicaciones:⁸⁻¹⁰

- Piezas con imposibilidad de ser restauradas.
- Evidencia radiográfica de reabsorción radicular interna o externa
- Longitud radicular menor a dos tercios de la longitud normal.
- Perforación del piso de la cámara pulpar
- Presencia de quiste dentígero
- Radiolucidez que abarca el folículo del diente permanente
- Piezas sin soporte óseo o movilidad dentaria externa.
- Niños medicamente comprometidos.

1.4.4 Pulpectomía no instrumentada

Esta técnica fue creada por el Dr. Hoshino en el año de 1990, basada en el concepto de la esterilización de la lesión y reparación tisular (LSTR, por sus siglas en inglés: Lesion Sterilization Tissue Repair) para el tratamiento de pulpas no vitales. La técnica consiste en la aplicación de una pasta que se crea a partir de la mezcla de diferentes fármacos antibacterianos para desinfectar los conductos radiculares. Se utilizan varios antibióticos en la misma pasta ya que es poco probable que reduzca o elimine una infección de raíz por la diversidad bacteriana que existe en los conductos radiculares. Luego de abrir la cámara pulpar del diente necrótico, se agranda la entrada de los canales, se limpian las paredes con hipoclorito, se lavan y secan, finalmente se aplica una pasta antibiótica.⁸⁻¹⁰

El uso de pastas antibióticas es una buena opción en el tratamiento de la pulpectomía, porque permiten la destrucción completa de las bacterias del conducto radicular infectado debido a sus propiedades antimicrobianas.⁸⁻¹⁰

Esta técnica tiene varias ventajas, induce la regeneración del tejido óseo, hay menos estrés para el paciente, ya que el procedimiento se realiza en una sola cita, ayuda a evitar extracciones y colocación de mantenedores de espacio.⁸⁻¹⁰

1.4.5 Indicaciones:

- Diente con necrosis pulpar.⁸⁻¹⁰
- En una pieza con reabsorción radicular mayor a 1/3 de longitud radicular.
- Pérdida severa de hueso y movilidad dentaria.
- En dientes con presencia de dolor, fístula, absceso y áreas de radiolucidez radiográfica en la zona periapical o interradicular.
- En pacientes no cooperadores.
- Cuando se desea conservar estratégicamente una pieza dentaria.
- Niños no colaboradores.

1.4.6 Contraindicaciones:⁸⁻¹⁰

- Alergia a alguno de los antibióticos.
- Reabsorción radicular interna o externa muy extensa.
- Dientes próximos a exfoliación.
- Perforación del piso pulpar.
- Niños con diagnóstico de endocarditis infecciosa.

1.5 Vías de invasión bacteriana

Las bacterias pueden ingresar a la pulpa de varias maneras. El medio más común es la caries, dependiendo del alcance de la patología se puede detectar rápidamente o durante un tiempo prolongado, donde se van acercando gradualmente hasta llegar a la pulpa.⁹⁻¹¹

Por ejemplo, si hay defectos en el sello marginal, las bacterias también pueden viajar a través de los túbulos dentinarios de igual forma a través de infecciones o traumatismos.⁹⁻¹¹

1.6 Microorganismos que se encuentran en la pulpa necrótica

La pulpa puede entrar en contacto con la microbiota bucal a través de una cavidad, el tejido de la pulpa está en contacto con una mayor concentración de productos microbianos. En tal situación, el tejido pulpar no puede impedir la penetración y propagación de microorganismos o sus productos y, como resultado, partes de la pulpa comienzan a descomponerse. La necrosis es inevitable y se crean condiciones favorables para una infección pulpar masiva. 12,13

La necrosis pulpar es el resultado de infecciones polimicrobianas y mixtas que involucran aerobios estrictos, anaerobios facultativos o microaerófilos como microorganismos concomitantes. Estos últimos y los aerobios estrictos reducen la tensión de oxígeno y el potencial redox en los tejidos. Por tanto, crean condiciones favorables para el desarrollo de bacterias puramente anaeróbicas..^{12,13}

Más de 700 tipos de microorganismos están asociados con la cavidad bucal, todas las superficies de la cavidad bucal están colonizadas por diversos microorganismos, las estructuras de la cavidad bucal tienen varias propiedades que promueven la formación de microsistemas bacterianos específicos. Los tejidos duros de los dientes actúan como una barrera mecánica protectora que impide la penetración de microorganismos a la pulpa dental, lo que en caso de daño determina la entrada de microorganismos a la cavidad pulpar, pudiendo provocar inflamación, infección o necrosis del diente. pulpa Las bacterias presentes en los conductos radiculares infectados tienen un número limitado de especies en comparación con toda la microbiota de la cavidad bucal; Las infecciones pulpares suelen ser mixtas^{12,13,14}

Algunas de estas especies bacterianas son: *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Campylobacter*, *Actinomyces*, *capnocytophaga pchracea*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella bucae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella denticola*, *Prevotella intermedia*, *Eubacterium nodatum*, *Porphyromona gingivalis*, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Einella corrodens*, *Enterobacter agglomerans*. La flora del conducto radicular está relacionada con el fracaso del tratamiento de la pulpa dental está formada por un número limitado de principales especies microbianas altamente positivas. Entre ellas, *Enterococcus faecalis* tiene una fuerte adaptabilidad y tolerancia a condiciones ambientales adversas, por lo que es difícil de erradicar.^{11,14}

1.7 Medicación intraconducto.

Los medicamentos intraconducto son sustancias farmacológicamente activas que se utilizan en el conducto radicular como adyuvantes en el tratamiento del sistema de conductos. Estos incluyen soluciones de lavado utilizadas durante la instrumentación y apósitos intracanal.¹⁵⁻¹⁷

Los medicamentos que son utilizados para tratamientos endodónticos juegan un papel importante en la eliminación de las bacterias en los conductos radiculares. A lo largo de los años se han utilizado muchos medicamentos entre ellos, hidróxido de calcio, paramonoclorofenol alcanforado, formocresol, pastas trantibióticas, etc. El uso eficaz de medicamentos colocados en el conducto ha ayudado a desinfectar el sistema del

conductos radiculares, reducir la inflamación y, por lo tanto, reducir el dolor posoperatorio.¹⁵⁻¹⁷

Los medicamentos intraconducto pueden ser útiles cuando el tratamiento de endodoncia requiere más de una cita porque las bacterias dentro del canal pueden sobrevivir y multiplicarse durante las visitas, por lo que pueden limitar el crecimiento bacteriano con este medicamento e incluso optimizar la eliminación..¹⁵⁻¹⁷

1.7.1 Tipos de medicamento intraconducto.

Según el mecanismo de acción se dividen en dos grandes grupos: Agentes poco específicos y agentes específicos.¹⁴⁻¹⁷

Los agentes no específicos incluyen antisépticos y desinfectantes como glutaraldehído, formocresol, hipoclorito de sodio, clorhexidina e hidróxido de calcio, que tienen propiedades bactericidas y bacteriostáticas. Los agentes selectivos se incluyen al grupo de antibióticos como: preparados de sulfas, penicilinas, nitromidazoles, tetraciclinas, lincomicinas, macrólidos, quinolonas y combinaciones entre ellos. En este grupo también se incluye combinaciones de antibióticos y corticoesteroides.¹⁴⁻¹⁷

1.7.2 Obturación radicular.

Obturar un conducto radicular implica rellenarlo con un material inerte y antiséptico, con el propósito de sellarlo de la manera más hermética posible. También se puede decir que la obturación es el relleno del espacio antes ocupado por la pulpa.¹⁴⁻¹⁷

1.7.3 Características ideales de un material de obturación en dientes temporales.¹⁴⁻¹⁷

- Debe presentar un grado de reabsorción semejante al de la raíz del diente.
- No dañar los tejidos periapicales y al germen del diente permanente.
- Ser reabsorbible.
- Tener propiedades antisépticas.

- Ser de fácil aplicación.
- Poder ser removido fácilmente.
- Ser radiopaco y no pigmentar el diente.

1.8 Materiales de obturación en tratamientos pulpares de piezas deciduas

Los materiales de relleno más comúnmente empleados en los dientes temporales son la pasta de ZOE, el yodoformo en pasta y el Ca(OH)_2 .¹⁴⁻¹⁷

1.8.1 Pasta de Óxido de Zinc Eugenol

Durante muchos años, el Oxido de Zinc Eugenol (ZOE) ha sido ampliamente utilizado como el principal material en odontología, especialmente en los Estados Unidos, donde el 94% de las universidades de odontología lo emplean de manera regular. El éxito clínico al utilizar este material tiene un rango que va desde el 68,7% al 86,1%. A pesar de la evidencia de su efecto antibacteriano en distintos estudios, se ha observado que al combinar este agente con formocresol, su efectividad antibacteriana aumenta.¹⁴⁻¹⁷

Propiedades:

- Promueve la neoformación ósea.
- Es fácil de introducir dentro de los conductos radiculares sin perder plasticidad.
- Es denso.
- No muestra señales de contracción.
- No es soluble ante los fluidos orales.

Al analizar sus desventajas, se ha observado que presenta una baja capacidad de adherencia y puede generar reacciones inflamatorias si se produce extravasación de material. También se documentado que la reabsorción de un diente que ha sido obturado con ZOE es más lenta en comparación con un diente que no ha sido obturado. Esto puede resultar en la muerte del hueso y el cemento radicular.¹⁴⁻¹⁷

1.8.2 Pastas a base de yodoformo

El yodoformo es una sustancia bactericida muy potente. Además, es radioopaco, reabsorbible y no irritante. Sin embargo, su color amarillo puede provocar decoloración en los dientes.¹⁶⁻¹⁸

1.8.3 Vitapex®: La composición de esta pasta de obturación incluye un 40.4% de yodoformo para actuar como agente bacteriostático, un 30.3% de hidróxido de calcio y un 22.4% de aceite de silicona como vehículo, junto con otros excipientes que conforman el 6.9%. La tasa de éxito clínico ha sido de un 96- 100%. Esta jeringa se presenta en forma premezclada, lo cual hace que sea fácil de colocar y quitar del interior de los conductos. La sustancia es radiopaca, lo que significa que se puede ver en una radiografía. No se endurece como el cemento, y además tiene propiedades antibacterianas. Si se expulsa del conducto radicular, se reabsorbe rápidamente. Una de las principales desventajas de este método es que existe un riesgo potencial de reabsorción. Esto podría reducir sus propiedades de desinfección y causar un efecto similar a un tubo vacío. En este caso, el conducto estaría lleno de fluido tisular que contiene bacterias, lo que favorece las infecciones. Todo esto afecta negativamente la tasa de éxito clínico y radiográfico.¹⁶⁻¹⁸

La radiolucidez de la furca se muestra de manera temprana en comparación con la pasta de ZOE y ZOE + yodoformo. El patrón de erupción de los dientes permanentes no se ve afectado. Este método puede ser utilizado en el tratamiento de la pulpectomía para dientes que presenten necrosis y pulpitis irreversible.¹⁶⁻¹⁸

1.8.4 Pastas a base de hidróxido de calcio : El hidróxido de calcio, introducido en 1930 por Hermann, se ha utilizado en endodoncia como material de obturación y como agente antimicrobiano. Esta base es muy fuerte, con un pH de 12.5. Se caracteriza por ser biocompatible y presenta una baja solubilidad en agua. Asimismo, cuenta con un alto potencial antibacteriano y es radioopaco. Además, su toxicidad es mínima y

mantiene su actividad química hasta su reabsorción. Este material tiene la capacidad de estimular la reparación mineralizada de la pulpa y los tejidos periapicales. Este producto puede utilizarse con diferentes vehículos, como agua destilada, glicerina, clorhexidina, y más. La principal desventaja del producto radica en su capacidad para generar una reabsorción interna más temprana que la reabsorción fisiológica de las raíces.¹⁶⁻¹⁸

1.9 Materiales empleados para la técnica no instrumentada

1.9.1 Pasta CTZ

En 1964, Capiello propuso la utilización de la pasta CTZ como una opción para el tratamiento endodóntico de dientes temporales. Esta pasta presenta ventajas en términos de su preparación sencilla, fácil uso y bajo costo. Además, esta técnica no requiere de la instrumentación de los conductos radiculares, lo cual reduce el tiempo necesario para su aplicación a una sola cita y permite tiempos operatorios más cortos. Se le da el nombre de pasta CTZ debido a sus componentes, que son cloranfenicol, tetraciclina, óxido de zinc y eugenol. Este último actúa como vehículo y se prepara en una proporción de 1:1:2. El efecto de esta sustancia se atribuye a la combinación de dos antibióticos de amplio espectro y la acción antimicrobiana del óxido de zinc y eugenol.²⁰⁻²²

1.9.2 Componentes:

1.9.3 Tetraciclina: (capsula de 500mg):

Es un antibiótico de amplio espectro el cual actúa contra *Cándidas*, *cocos* y *bacilos* grampositivos, gramnegativos, *Pseudomonas* y *E. coli*. Este medicamento posee propiedades bacteriostáticas contra ciertos tipos de protozoarios. Se puede emplear para tratar infecciones causadas por los microorganismos *Rickettsias*, *Clamidias*, *Micoplasmas* y *Protozoarios*, así como también *Espiroquetas*. El efecto de esta sustancia se observa en los microorganismos que surgen de infecciones endodónticas, su excreción ocurre a través de los riñones.²⁰⁻²²

1.9.4 Mecanismo de acción: Inhibe la síntesis de proteínas mediante la unión en los ribosomas(RNAt- RNAm) de bacterias sensibles).²⁰⁻²²

1.9.5 Contraindicaciones:

Existen ciertas situaciones donde el uso de tetraciclina está contraindicado. Estas incluyen:²⁰⁻²²

- Personas que tienen una hipersensibilidad conocida hacia las tetraciclinas.
- Mujeres embarazadas, ya que puede haber potenciales riesgos para el feto.
- Madres lactantes, debido a que la tetraciclina puede pasar a través de la leche materna y afectar al bebé.
- Niños menores de 8 años, ya que la tetraciclina puede afectar al desarrollo de los dientes y causar decoloración permanente.

Es importante tener en cuenta estas contraindicaciones antes de iniciar el uso de tetraciclina. Este medicamento no es ampliamente aceptado debido a que puede causar un cambio de color o hipoplasias en el esmalte durante los periodos de calcificación de los dientes. Esto también dependerá de la duración del tratamiento, la dosis administrada y el estado de formación del diente..²⁰⁻²²

1.9.6 Cloranfenicol: (capsula de 500mg)

El cloranfenicol se origina del microorganismo *Streptomyces Venezuelae*. Se trata de un fármaco que inhibe el crecimiento de bacterias tanto gram positivas como gram negativas, y además, tiene la capacidad de combatir microorganismos anaerobios, incluyendo el hongo *Candida albicans*. La excreción de esta sustancia ocurre principalmente a través de la orina.²⁰⁻²²

1.9.7 Mecanismo de acción: Impide la síntesis de proteínas mediante la inhibición de la peptidiltransferasa a nivel del ribosoma bacteriano.²⁰⁻²²

1.9.8 Contraindicaciones:

La administración de este medicamento no se recomienda en pacientes que tengan alergia o hayan experimentado reacciones adversas a este fármaco. Se ha observado que existe riesgo de toxicidad en casos de uso prolongado del medicamento.²⁰⁻²²

Es importante tener precaución al administrar El Cloranfenicol a pacientes que tienen enfermedad hepática, insuficiencia renal o depresión de la médula ósea. En el caso de la depresión de la médula ósea, puede causar la supresión de la médula ósea y provocar una anemia aplásica idiosincrásica, dependiendo de la dosis administrada.²⁰⁻²²

1.9.9 Óxido de zinc- Eugenol (1000mg, 1 gota eugenol)

El eugenol y el óxido de zinc son los componentes principales de este producto al mezclarse, forman eugenolato de zinc esta combinación posee propiedades útiles en odontología, tales como su capacidad sedante en el pulpar, su uso como apósito quirúrgico, sellador de conductos radiculares y como desinfectante en la obturación de los conductos, entre otras aplicaciones. El eugenol posee la habilidad de bloquear la transmisión nerviosa, cuenta con propiedades antiinflamatorias al inhibir la respuesta inflamatoria, además, actúa como bactericida contra estafilococos, micrococos, bacilos y enterobacterias.²⁰⁻²²

Es importante tener precaución al utilizarlo, ya que su uso directo en altas concentraciones puede provocar lesiones como quemaduras en los tejidos blandos.²⁰⁻²²

1.9.10 Mecanismo de acción del Óxido de Zinc: La interferencia con la proteína NorA es la responsable de la resistencia bacteriana. ²⁰⁻²²

1.9.11 Mecanismo de acción del eugenol: Desnaturaliza la pared celular bacteriana, causando la muerte de microorganismos. ²⁰⁻²²

1.9.12 Ventajas de la pasta CTZ²⁰⁻²²:

- Es una técnica simple y fácil de realizar.
- Disminuye el tiempo de trabajo.
- Ha mostrado excelentes resultados clínicos, debido al efecto antimicrobiano de los elementos que la componen.
- Estabilización del proceso de reabsorción radicular.
- No interfiere con la resorción fisiológica del órgano dental deciduo.²⁰⁻²²

1.9.13 Desventajas de la pasta CTZ ²⁰⁻²².

- Si se coloca demasiado material en la cámara pulpar, puede producirse una pigmentación en la corona dental.
- Existe una falta de control de calidad en los componentes de este cemento, lo cual puede afectar su capacidad antimicrobiana. Esto se debe a factores como el origen, la naturaleza y la pureza de los medicamentos utilizados en la mezcla.

1.9.14 Indicaciones de la pasta CTZ:²⁰⁻²²

- Diente con Necrosis Pulpar.
- Dientes con trayectos sinuosos.
- Fracasos de terapia pulpar.
- Paciente de difícil manejo.
- Paciente de escasos recursos.

1.10 Pasta 3 Mix-MP:

Esta pasta triple antibiótica fue desarrollada por el Dr. Hoshino y ha sido empleada en los últimos años como tratamiento para piezas dentales necróticas, especialmente en pulpectomías, con el objetivo de simplificar el procedimiento.^{21,22}

Según investigaciones llevadas a cabo, se ha comprobado que la pasta triple antibiótica tiene la capacidad de eliminar las bacterias de los tejidos dentales infectados tanto en dientes temporales como permanentes. La forma en que se presenta es como una opción excelente, comprobando su efectividad en ambos escenarios.²¹⁻²²

1.10.1 Composición

La pasta 3Mix consta de dos partes:

Polvo: Está compuesto por una combinación de tres antibióticos: metronidazol, que se utiliza para tratar infecciones anaerobias y tiene un efecto bactericida; ciprofloxacino, que actúa en infecciones periapicales y también tiene un efecto bactericida; y minociclina, que se utiliza para combatir tanto bacterias aerobias como anaerobias. La proporción de Metronidazol (500 mg), Ciprofloxacina (200 mg) y Minociclina (100 mg) es de 1:1:1.²¹⁻²²

Líquido: está compuesto por la mezcla de Magrogol y Propylen Glicol. Tiene la habilidad de penetrar rápidamente en la dentina y combatir la lesión.²¹⁻²²

Ambos actúan como vehículos transportadores de los antibióticos en una proporción 1:1.²¹⁻²²

1.11 Determinación de la Concentración Mínima Bactericida

1.11.1 Fundamento

La Concentración Mínima Bactericida (CMB) se define como la cantidad más baja de antimicrobiano que elimina el 99,9% de la población inicial de bacterias, lo cual equivale a una reducción de 3 logaritmos decimales. El recuento se lleva a cabo utilizando técnicas de cultivo.^{23,24}

Para calcular la CMB se emplean técnicas de macro o microdilución en las que la bacteria y el antimicrobiano se enfrentan en un caldo, que se utilizan para la determinación de la *Concentración Mínima Inhibitoria* (CMI).^{23,24}

1.11.2 Concentración inhibitoria 50 (CI₅₀)

Esta medida cuantitativa indica la cantidad necesaria de un compuesto o sustancia (inhibidor) para inhibir el crecimiento celular en general, incluyendo las células eucariotas, en un 50% en un entorno de laboratorio. Para determinar la CI₅₀, se puede construir una curva de dosis-respuesta y analizar cómo diferentes concentraciones del antagonista pueden revertir la actividad del agonista.^{23,24}

CMI 90 y CMI 50. Es la concentración mínima de un agente antimicrobiano, expresada en ug/m, que inhibe el 90 o el 50% de los microorganismos probados, respectivamente.^{23,24}

1.12 Capacidad antimicrobiana

La capacidad antimicrobiana es la capacidad de una sustancia para inhibir o destruir microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos. Los agentes antimicrobianos pueden ser naturales o sintéticos y pueden actuar de diferentes maneras para matar o inhibir el crecimiento de microorganismos.

La capacidad antimicrobiana se puede medir de varias formas, como la concentración mínima inhibidora (CMI) o la concentración mínima bactericida (CMB).⁴⁰

2. Pregunta de investigación

¿Cuál será la concentración más eficaz con relación a la capacidad antimicrobiana contra los microorganismos *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* de la pasta CTZ en un modelo *in vitro*?

2.1 Justificación

La terapia pulpar en el área de la odontopediatría es uno de los tratamientos más comunes realizados durante la consulta siendo algunas de las principales indicaciones la caries, lesión traumática u otras causas. Cuando existe una lesión extensa que logra llegar a la cámara pulpar los microorganismos pueden infiltrarse en los conductos radiculares, estos microorganismos son los causantes de la infección pulpar. El objetivo de la terapia pulpar no vital es eliminar la infección de los conductos radiculares, como odontopediatras es importante conocer los diferentes tratamientos que existen en la actualidad para poder brindar la mejor atención.

En las guías actuales de tratamientos de conductos se aceptan diferentes terapias pulpaes para dientes primarios no vitales como la endodoncia no instrumentada (Técnica LSTR). El procedimiento clínico de estas técnicas es simple y no requiere un largo tiempo de trabajo en el sillón dental o múltiples visitas al odontólogo.

La terapia endodóntica no instrumentada requiere de la colocación de pastas con mezclas de antibióticos en la cámara pulpar que tiene como objetivo desinfectar los conductos radiculares y reparar el tejido.

Estas pastas se han utilizado a lo largo de los años y han tenido resultados exitosos, sin embargo implica un riesgo latente el no controlar la dosis de los antibióticos en la mezcla pudiendo causar resistencia a los antibióticos utilizados. Actualmente no hay un control en cuanto al uso de éstas pastas y el uso indiscriminado podría provocar fracasos de tratamiento asociados con bacterias multirresistentes por lo que el propósito de este trabajo es aplicar el método de preparación de la pasta CTZ que

Capiello reportó (500mg de tetraciclina, 500mg de cloranfenicol, 1000 de óxido de zinc y 1gota de Eugenol), encontrar su concentración mínima inhibitoria (CIM), su concentración mínima bactericida (CMB) y evaluar la eficacia antimicrobiana de las diferentes concentraciones de la pasta sobre los microorganismos: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y proponer una concentración mínima inhibitoria que funcione contra las tres cepas mencionadas.

Este estudio es relevante ya que puede lograr un efecto positivo, en la salud de los pacientes una vez comprobada la eficacia antimicrobiana de la pasta en concentraciones más bajas, como disminuir la posibilidad de adquirir resistencia a los antibióticos utilizados en la pasta CTZ.

3. Hipótesis

Hay una concentración eficaz con relación a la capacidad antimicrobiana contra los microorganismos *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en un modelo *in vitro*.

4. Objetivo general

Evaluar la eficacia de la capacidad antimicrobiana de la pasta CTZ en las concentraciones de 0.05 mg/mL., 0.1mg/mL., 0.3 mg/mL., 0.5 mg/mL., 1.0 mg/mL., 1.5mg/mL. para inhibir los microorganismos *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en un modelo *in vitro*.

4.1 Objetivos específicos

- Obtener las cepas de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* *in vitro*.
- Medir la inhibición en caldo y las unidades formadoras de colonia utilizando la técnica de recuento bacteriano por goteo en las cepas de *Enterococcus faecalis*,

Escherichia coli y *Staphylococcus aureus* con las diferentes concentraciones, (0.05 mg/mL., 0.1mg/mL., 0.3 mg/mL., 0.5 mg/mL., 1.0 mg/mL., 1.5mg/mL).

- Determinar cuál es la concentración más adecuada para inhibir el crecimiento de las cepas de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

5. Materiales y Métodos

5.1 Lugar de realización

Laboratorio de ciencias básicas de la Facultad de Estomatología de la UASLP.

5.2 Diseño de investigación

Experimental *in vitro*

5.3 Muestreo (método de selección de la muestra)

Cepas bacterianas ATCC, obtenida del Laboratorio de Ciencias Básicas.

5.3.1 Tamaño de la muestra

El estudio está constituido por una muestra por conveniencia tomando en cuenta el tamaño de muestra y la metodología que se aplicará.

El experimento se repitió 8 veces.

Grupo de estudio

- Grupo 1 Control negativo: Bacterias sin ningún tipo de tratamiento.

Se realizan diferentes soluciones a partir de una solución madre de 1.5mg/1mL. De CTZ para ello se utilizó la formula:

$$C1XV1 = C2XV2$$

C1: 1.5mg/mL de CTZ

C2: 0.05 mg/mL, 0.1mg/mL, 0.3 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 1.5mg/mL

V1: ?

V2: 3 mL

- Grupo 2: (0.05 mg/mL.) 10.6µl de la solución de 1.5mg/1ml más 3989 µl de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
- Grupo 3 : (0.1mg/mL.) 15 µl de la solución de 1.5mg/ml más 3980 µl de de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
- Grupo 4: (0.3 mg/mL.) 80µl de la solución de 1.5mg/ml más 3920 µl de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
- Grupo 5 : (0.5 mg/mL.) 133µl de la solución de 1.5mg/ml más 3867 µl de de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
- Grupo 6: (1.0 mg/mL.) 266µl de la solución de 1.5mg/ml más 3734 µl de de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
- Grupo 7 : (1.5mg/mL.) 400µl de la solución de 1.5mg/ml más 3600 µl de medio de cultivo. (soya tripticaseína)

5.4.1 Criterios de selección

- i. **Criterios de inclusión:** Cepas de bacterias puras.
- ii. **Criterios de no inclusión:** Cultivos diferentes a los de nuestro interés.
- iii. **Criterios de eliminación:** Cultivos

5.5 Definición conceptual y operacional de las variables

Variable independiente	Clasificación	Definición conceptual	Definición operacional	Escala
<ul style="list-style-type: none"> ○ Grupo 1: Control negativo: Bacterias sin ningún tipo de tratamiento. ○ Grupo 2: 0.05 mg/ml. ○ Grupo 3 : 0.1mg/ml. ○ Grupo 4: 0.3 mg/ml. ○ Grupo 5 : 0.5 mg/ml. ○ Grupo 6: 1.05mg/ml ○ Grupo 7 : 1.5mg/ml. 	Catórica nominal.	Mezcla de medicamentos antibacterianos para la eliminación de infecciones dentarias, incluyendo lesiones dentarias, pulpares y periapicales.	Se forma la mezcla original de la pasta y después se diluye a concentraciones más bajas.	mg/mL

Variable dependiente	Clasificación	Definición conceptual	Definición operacional	Escala
Concentración mínima inhibitoria (CMI).	Cuantitativa continua.	La CMI, o concentración mínima inhibitoria, es la concentración más baja (en µg/ml) de un antibiótico que inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana.	La inhibición del crecimiento con las diferentes concentraciones de pastas a utilizar se medirá por medio de inhibición en caldo, recuento bacteriano por goteo en placa.	CMI: Unidades de absorbancia.
Concentración mínima bactericida (CMB).		La Concentración Mínima Bactericida (CMB) se define como la menor concentración de antimicrobiano que ha matado el 99,9% del inóculo original, equivalente a una disminución de 3 logaritmos decimales.		CMB: mm / número de colonias

5.6 Elaboración de medios de cultivo:

5.6.1 Preparación de caldo (soya tripticaseína)

Método de preparación:

- 1.- Se disuelven 30g del medio deshidratado en un litro de agua destilada.
- 2.- Se coloca en un agitador magnético en el que se calienta para formar un caldo y a la vez se agita creando una solución homogénea.
- 3.- Se crea tapón de algodón y se colocan en el matraz donde se colocó el medio diluido.
- 4.- Se coloca el medio(caldo) en tubos de ensayo con rosca.
- 5.- Se colocan los tubos de ensayo en el autoclave durante 20 min. para esterilizar. Después se refrigera.

5.6.2 Preparación de agar (Mueller Hinton), preparación de los medios de cultivo.

1. Se disuelven 38g de medio en un litro de agua destilada
2. Se coloca en un agitador magnético para formar una mezcla homogénea.
3. Se crea tapón de algodón y se colocan en el matraz donde se colocó el medio diluido.
4. Se coloca el matraz en la autoclave durante 20 min para esterilizar.
5. Después se vacía en cajas petri con mechero para evitar la contaminación con microorganismos presentes en el ambiente y se dejan refrigerar 24 hrs.

5.7 Reactivación de las cepas.

1. Se mantuvo en condiciones de refrigeración las cepas bacterianas ATCC de *E. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus* puras, hasta el momento de su reactivación.
2. Para reactivar las cepas bacterianas, se procedió a la siembra de ellas en agar Mueller Hinton, se sembraron 3 cajas petri.

3. Luego las cajas fueron colocadas en una incubadora a 37 C, hasta comprobar su reactivación 24 horas después.

5.7.1 Reactivación de cepas bacterias puras en medio (bacterias para el inóculo).

1. Se coloca una colonia de bacterias de *E. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus* en tres tubos de ensaye con 5 mL de caldo para crecimiento. Se colocan en un agitador para crecimiento con agitación (100 rpm) a 37° C hasta que alcanzó la turbidez equivalente a 0,5 del estándar de McFarland
2. Se valora crecimiento 24 horas después.

5.7.2 Diluciones de el antibiótico de la pasta CTZ

- Se realiza solución madre con 1.5mg de antibiótico de la pasta CTZ y 1 ml de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
1. Se coloca en un agitador y después en un sonicador durante una hora para crear una solución homogénea.
 2. Se realizan diluciones a partir de la solución de 1.5mg/1ml.
 - Dil 1: 0.05 mg/mL, se toman 10.6µl de la solución de 1.5mg/1ml más 3989 µl de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
 - Dil 2: 0.1mg/mL, se toman 15 µl de la solución de 1.5mg/ml más 3980 µl de de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
 - Dil 3: 0.3 mg/mL se toman 80µl de la solución de 1.5mg/ml más 3920 µl de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
 - Dil 4: 0.5 mg/mL se toman 133µl de la solución de 1.5mg/ml más 3867 µl de de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
 - Dil 5: 1.0 mg/mL se toman 266µl de la solución de 1.5mg/ml más 3734 µl de de medio de cultivo. (soya tripticaseína).

- Dil 6: 1.5mg/mL se toman 400µl de la solución de 1.5mg/ml más 3600 µl de medio de cultivo. (soya tripticaseína).
- Se mide la absorbancia de las diluciones en la aplicación: SCAN.

5.8 Medición escala de Mc Farland:

1. Se hacen diluciones de cultivo bacteriano que estuvo a 37 °C por toda la noche con medio limpio (caldo, soya tripticaseína).
2. Las diluciones que se realizaron fueron: 1:5,1:10,1:20, 1:32.
3. Después se midieron las diluciones en un espectrofotómetro (Thermo scientific) para ajustar el crecimiento bacteriano a 0.5 en la escala de Mc Farland, equivalente a 10×10^8 bacterias por mL
4. Se leyeron y eligieron las diluciones que dieran una absorbancia entre 0.08 y 0.1.

5.9 Determinación de la inhibición de crecimiento en caldo CMI

Una vez se determina la dilución necesaria para que el crecimiento bacteriano este en 0.5 de la escala de McFarland siendo el número de bacterias ideal para iniciar el analisis de CMI las bacterias se ponen en contacto con las 6 diluciones previamente preparadas de la pasta CTZ en cajas de 96 pozos con la finalidad de conocer el comportamiento de las bacterias cultivadas en suspensión, se realizaron seguimientos de crecimiento durante 24 horas de cultivo, con 8 réplicas cada dilusion.

Las cajas con los pozos fueron incubados a 37°C. Para cada medición, las placas fueron agitadas y se realizó la medición del crecimiento bacteriano a una longitud de onda (λ) de 620 nm en un lector de microplacas..

Al final los resultados del crecimiento bacteriano en las diluciones fueron graficados, pudiendo determinar la CMI en la dilución donde hubo menos crecimiento bacteriano.

5.10 Determinación de la concentración mínima bactericida por medio de recuento bacteriano por goteo en placa CMB

Luego de obtener los resultados de la curva de crecimiento del experimento de CMI, se eligió la mínima concentración a la cual aún hubo crecimiento según los promedios que previamente se realizaron de las 6 diluciones de antibiótico con las bacterias para luego tomar de un pozo 10 µl agregando 90 µl de caldo (soya tripticaseína) para realizar diluciones de 10^{-1} hasta 10^{-7} , se procede a realizar la siembra por goteo de 10 µl con cada dilución seriada en cajas petri. Se dejan en incubación durante 24 hrs a 37°C.

5.11 Conteo UFC:

- La dilución que se eligió para este experimento fue la 10^{-5} .
- Se realiza el conteo de las colonias de cada gota de las diluciones 10^{-5} .
- Se procede a realizar la fórmula para UFC (# de colonias X factor de dilución al inverso/ inóculo en mL).

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{Número\ de\ colonias * Factor\ de\ dilución\ al\ inverso}{Inóculo\ en\ mL} = \mathbf{Log10}$$

- Se obtiene CMB.

6. Análisis estadístico

6.1 Método: A los datos obtenidos en el experimento se analizaron utilizando un ANOVA de una sola dirección considerando valores estadísticamente significativos con una $p < 0.05$ así como una prueba de medias tipo Tukey dichos análisis se realizarán con el programa SIGMA PLOT.

7. Consideraciones Éticas

7.1 Grado de riesgo del estudio (de acuerdo con la ley general de salud en materia de investigación).

Grupo de Riesgo I:

La presente investigación tiene un grado de riesgo y según la ley general de salud en materia de investigación son microorganismos que representan escaso riesgo para el individuo y la comunidad, estos se manejarán en laboratorio de tipo básico de microbiología, empleando gabinetes de seguridad cuando se considere necesario.

7.2 Compromiso de aplicación de las normas internacionales a los procedimientos clínicos y de laboratorio.

Los procedimientos a realizar se llevaron a cabo bajo la norma oficial mexicana **NOM-087-ssa1-2002. Protección ambiental – salud ambiental – residuos peligrosos biológico-infecciosos – clasificación y especificaciones de manejo.**

Dicha Norma Oficial Mexicana establece la clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos así como las especificaciones para su manejo. Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria para los establecimientos que generen residuos peligrosos biológico-infecciosos y los prestadores de servicios a terceros que tengan relación directa con los mismos.

7.3 Manejo de residuos biológico infecciosos y ambientales.

Se siguieron las recomendaciones de la norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 en cuanto a las fases de manejo según la identificación de los residuos.

Las fases de manejo recomendadas son:

- a) Envasado de los residuos generados.
- b) Almacenamiento temporal.
- c) Recolección y transporte externo.
- d) Tratamiento.
- e) Disposición final.
- f) Identificación y envasado

Según la norma durante el envasado, los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o peligrosos.

Los cultivos y cepas de agentes infecciosos en estado sólidos serán envasados en bolsas de polietileno de color rojo. Los cultivos y cepas de agentes infeccioso en estado líquido en recipientes herméticos.

También se seguirá los lineamientos de la **NOM-065-SSA1-1993**, que establece las especificaciones sanitarias de los medios de cultivo.

7.4 Manejo de las normas de Bioseguridad, especialmente referentes a la pandemia

Se cumplieron las indicaciones establecidas para prevenir contagios como la sana distancia, lavado de manos, uso de equipo de protección personal; como cubrebocas, guantes, lentes o protectores faciales.

7.5 Fuente de financiamiento

Todos los materiales y equipos necesarios para la presente investigación fueron proporcionados por el laboratorio de Ciencias Básicas de la Facultad de Estomatología de la UASLP.

7.6 Difusión esperada de los resultados

Se espera la publicación de un artículo en una revista indexada co un factor de impacto mínimo de 1.

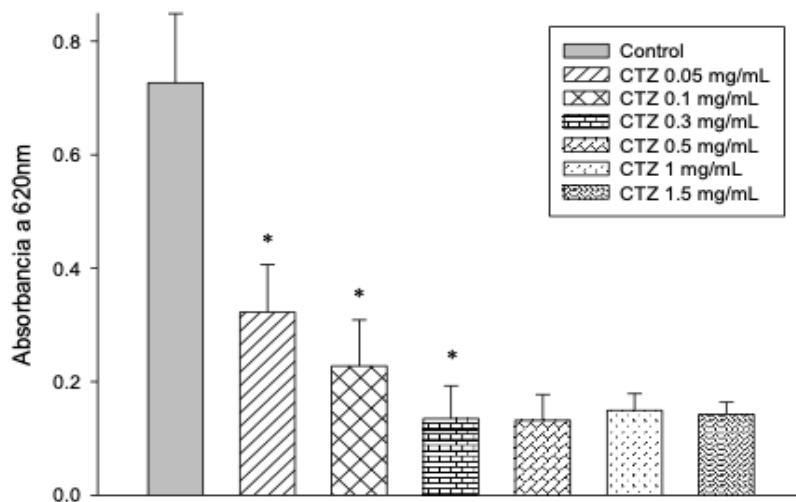
8. Resultados

En la tabla 1, se pueden observar las diferentes concentraciones de CTZ, utilizadas en el presente estudio para la cepa de *E. faecalis*, así como el porcentaje de inhibición que resulta en cada una de ellas y podemos observar que la concentración mínima inhibitoria (CMI50), para este caso, fue obtenida en la concentración de 0.05 mg/mL.

En la Figura 1 se observan los resultados, de forma gráfica, de las diferentes concentraciones de CTZ utilizadas para *E. faecalis* en caldo incubadas durante 24 hrs en una absorbancia de 620 nm las cuales mostraron diferencias estadísticas significativas de acuerdo al ANOVA, así, los resultados de la prueba de medias de Tukey ($p < 0.05$) y comparando los resultados con el grupo control se evidencia la acción inhibitoria mostrando mejor comportamiento en las diluciones 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL y 0.3 mg/mL con 51%, 64% y 79% de porcentaje respectivamente.

Tabla 1. Diluciones y porcentaje de inhibición en caldo de cultivo de *Enterococcus faecalis*.

DILUCIONES	PORCENTAJE
CONTROL	100
CTZ 0.05 mg/mL	51
CTZ 0.1 mg/mL	64
CTZ 0.3 mg/mL	79
CTZ 0.5 mg/mL	82
CTZ 1 mg/mL	81
CTZ 1.5 mg/mL	82.40



*= Estadísticamente significativo $p = 0.05$

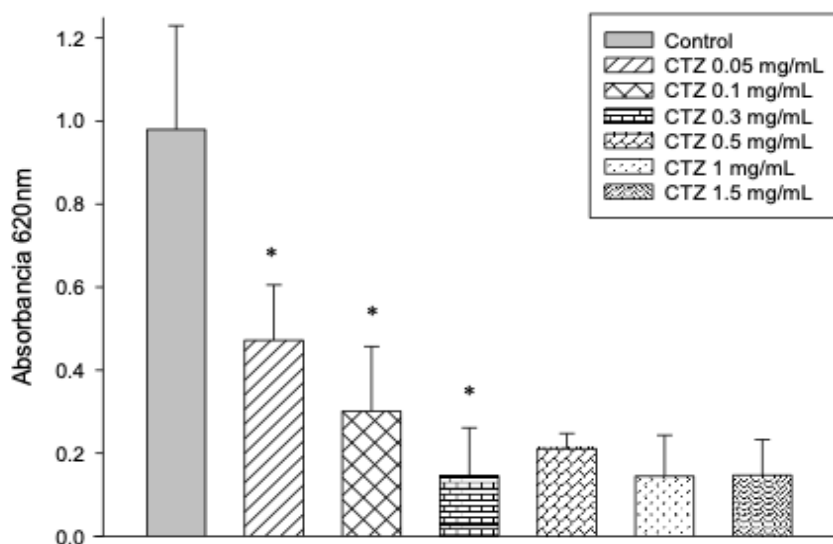
Figura 1. Inhibición en caldo de *E. faecalis* en diferentes concentraciones de CTZ, incubación de 24 horas.

En la tabla 2, se pueden observar las diferentes concentraciones de CTZ, en caldo de cultivo, utilizadas en el presente estudio para la cepa de *E. coli*, así como el porcentaje de inhibición que resulta en cada una de ellas y podemos observar que la concentración mínima inhibitoria (CMI₅₀), para este caso, fue obtenida en la concentración de 0.05 mg/mL.

En la Figura 2 se observan los resultados, de forma gráfica, de las diferentes concentraciones de CTZ utilizadas para *E. coli* en caldo incubadas durante 24 hrs en una absorbancia de 620 nm las cuales mostraron diferencias estadísticas significativas de acuerdo al ANOVA, así, los resultados de la prueba de medias de Tukey ($p < 0.05$) y comparando los resultados con el grupo control se evidencia la acción inhibitoria mostrando mejor comportamiento en las diluciones 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL y 0.3 mg/mL con 49.6%, 65% y 81% de porcentaje respectivamente.

Tabla 2. Diluciones y porcentaje de inhibición en caldo de cultivo de *Escherichia coli*.

DILUCIONES	PORCENTAJE
CONTROL	100
CTZ 0.05 mg/mL	49.6
CTZ 0.1 mg/mL	65
CTZ 0.3 mg/mL	81
CTZ 0.5 mg/mL	79
CTZ 1 mg/mL	83
CTZ 1.5 mg/mL	84



*= estadísticamente significativo $p = 0.05$

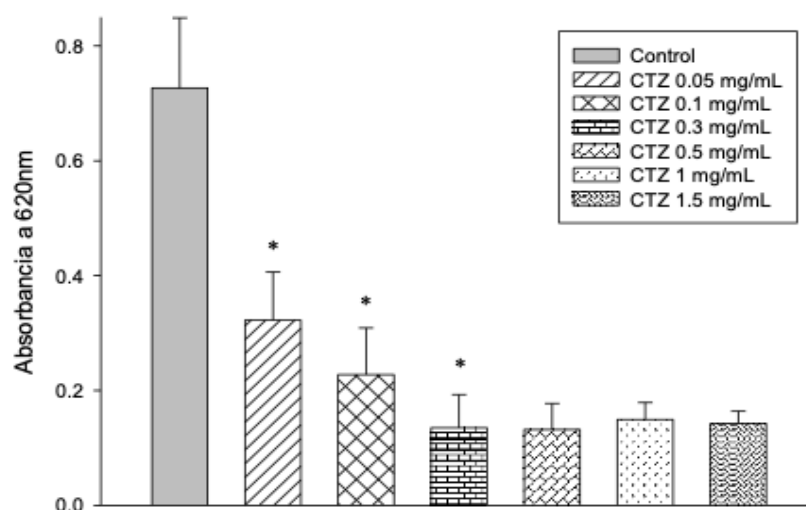
Figura 2. Inhibición en caldo de *E. coli* en diferentes concentraciones de CTZ, incubación de 24 horas.

En la tabla 3, se pueden observar las diferentes concentraciones de CTZ, en caldo de cultivo, utilizadas en el presente estudio para la cepa de *S. aureus*, así como el porcentaje de inhibición que resulta en cada una de ellas y podemos observar que la concentración mínima inhibitoria (CMI50), para este caso, fue obtenida en la concentración de 0.1 mg/mL.

En la Figura 3 se observan los resultados, de forma gráfica, de las diferentes concentraciones de CTZ utilizadas para *S. aureus* en caldo incubadas durante 24 hrs en una absorbancia de 620 nm las cuales mostraron diferencias estadísticas significativas de acuerdo al ANOVA, así, los resultados de la prueba de medias de Tukey ($p < 0.05$) y comparando los resultados con el grupo control se evidencia que se presenta acción inhibitoria mostrando mejor comportamiento en las diluciones 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL y 0.3 mg/mL con 35%, 56% y 68% de porcentaje respectivamente.

Tabla 3. Diluciones y porcentaje de inhibición en caldo de cultivo de *Staphylococcus aureus*.

DILUCIONES	PORCENTAJE
CONTROL	100
CTZ 0.05 mg/mL	35
CTZ 0.1 mg/mL	56
CTZ 0.3 mg/mL	68
CTZ 0.5 mg/mL	67
CTZ 1 mg/mL	70
CTZ 1.5 mg/mL	71



Estadísticamente significativo $p = 0.05$

Figura 3. Inhibición en caldo de *S. aureus* en diferentes concentraciones de CTZ, incubación de 24 horas.

8.1 Medición UFC

En el estudio realizado para hacer el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC), de acuerdo a la metodología empleada, descrita en el Capítulo de Materiales y Métodos, en la Figura 4, se muestra claramente una disminución en las unidades formadoras de colonia (UFC) en comparación con el control, resultando de menor a mayor *E. faecalis*, *S. aureus* y *E. coli*, respectivamente.

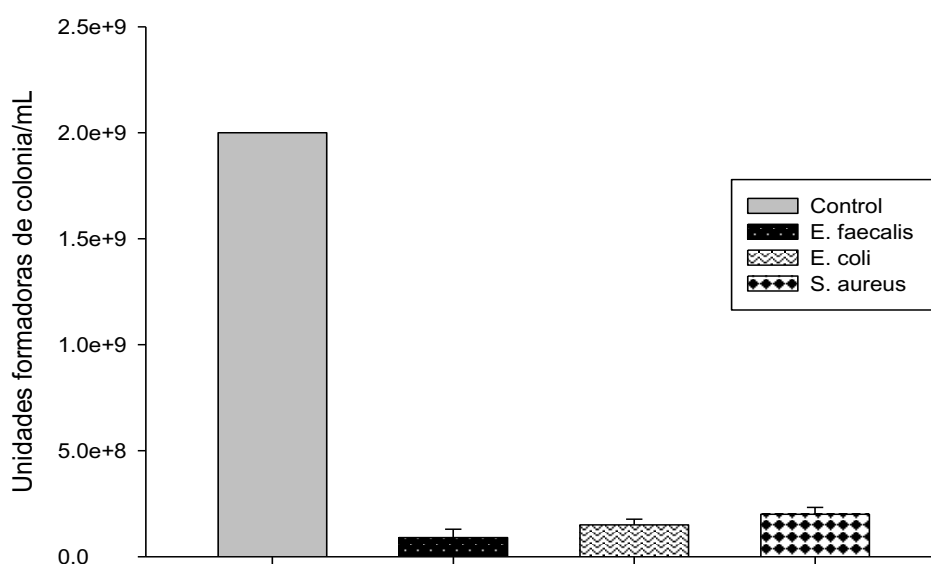


Figura 4. Unidades formadoras de colonia (UFC) de *E. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus* en comparación con el control.

En la figura 5 no se observó una actividad bactericida ya que no hubo una disminución de 3 logaritmos decimales en comparación con el control, se observa que *E. faecalis* tiene una mayor inhibición, presentándose enseguida *E. coli* y por último con mayor número de unidades formadoras de colonia *S. aureus*.

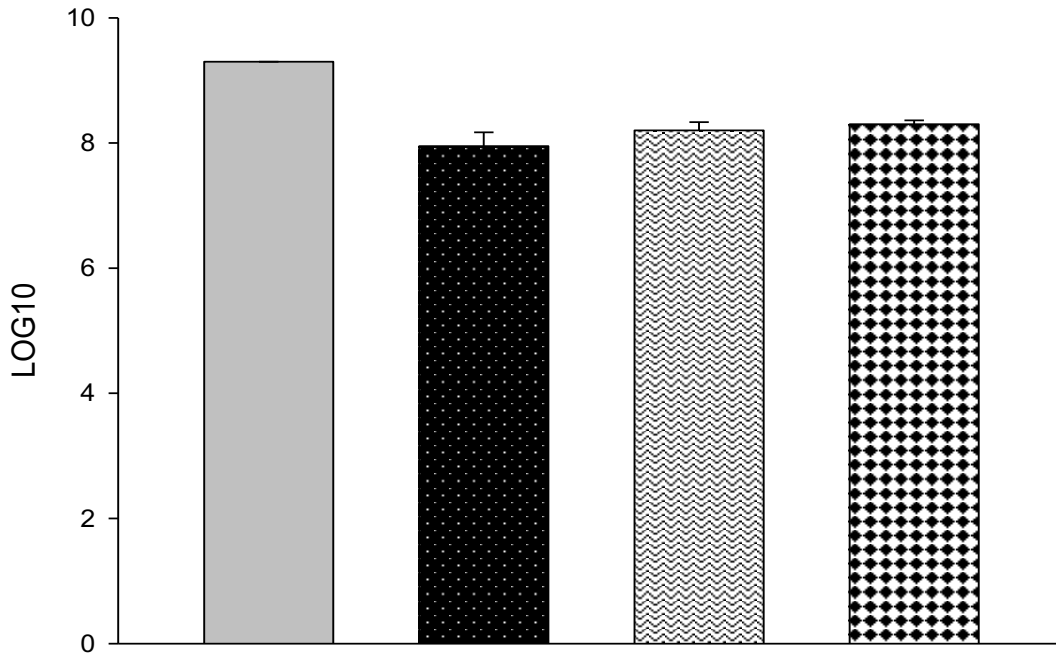


Figura 5. Log 10 aplicado a UFC (unidades formadoras de colonia) de *E. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus*.

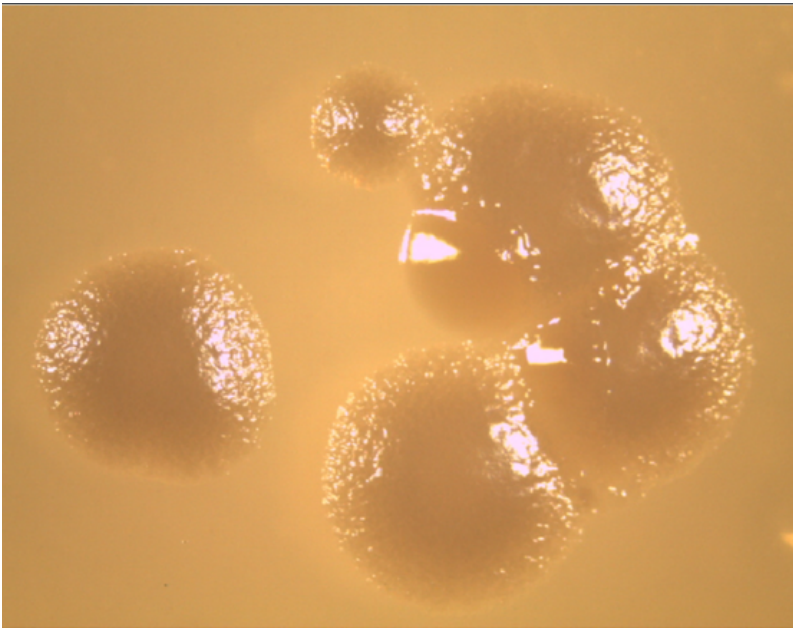


Imagen 1 Conteo de colonias en placa.

9. Discusión

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de la pasta CTZ contra las cepas *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, ya que están involucrados en casos de fracaso del tratamiento endodóntico, son resistentes a los antibióticos y demuestran mecanismos de virulencia que pueden dificultar el manejo de las lesiones endodónticas.^{35,36}

El sistema de conductos radiculares de los dientes primarios necróticos tiene una naturaleza polimicrobiana, similar a la de los dientes permanentes, con predominio de microorganismos anaerobios. Souza y Medeiros realizaron un estudio sobre la prevalencia de microorganismos en 31 conductos radiculares de dientes temporales necróticos y se encontró que en los conductos radiculares de dientes primarios humanos con pulpa necrótica y lesiones periapicales, la infección es polimicrobiana con predominio de microorganismos anaeróbicos.²⁴ Silva y Nelson, realizaron un estudio similar en el que concluyeron lo mismo pero obtuvieron predominio de *estreptococos*.²⁵

Se ha evidenciado que es común encontrar *Enterococcus faecalis* en los conductos radiculares de los dientes tratados endodónticamente con infección persistente o infecciones secundarias. Esta bacteria puede ser una de las primeras causas en el fracaso del tratamiento de endodoncia debido a su resistencia y su capacidad para sobrevivir al tratamiento. Además, puede colonizar áreas inaccesibles a los mecanismos de desinfección.^{26,27,38}

El éxito de la pulpectomía está directamente relacionado con la reducción o eliminación bacteriana no sólo dentro de los conductos radiculares preparados sino también en los lugares a los que normalmente no se llega con la preparación quimicomecánica.³⁶⁻³⁸

Existen factores como, la presencia de múltiples conductos, el proceso de reabsorción fisiológica y en algunos casos la incapacidad para controlar el comportamiento infantil los que hacen que el tratamiento convencional sea difícil y requiera mucho tiempo. Por ello el tratamiento endodóntico no instrumentado se ha propuesto como una alternativa

al ser un tratamiento más rápido y sencillo que emplea pastas antibióticas para promover la desinfección del conducto radicular y, por tanto, la reparación del tejido infectado. Por esta razón, es fundamental comprender las propiedades de las pastas utilizadas en esta técnica, entre los medicamentos más utilizadas se encuentra la pasta CTZ.^{19,,28}

Uno de los problemas relacionados con el tratamiento endodóntico de los dientes temporales es el cambio de color, la desventaja de la pasta CTZ es la pigmentación de la corona dental provocada por sus componentes. Este hecho genera resistencia de los odontopediatras para el uso de la pasta CTZ.^{29,33}

El uso de tetraciclina en el tratamiento odontológico es cuestionable, ya que puede provocar manchas en los dientes, la ingesta de este antibiótico durante el periodo de odontogénesis provoca el oscurecimiento de los dientes. Sin embargo, en un estudio longitudinal en niños del Instituto de Medicina Integral Profesor Fernando Figueroa (IMIP), tuvo como objetivo evaluar la incidencia de manchas en el esmalte en 189 premolares y el tratamiento de endodoncia en sus antecedentes deciduos, se identificó que se presentó la aparición de manchas, sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa, lo que sugeriría que la tetraciclina no actúa localmente, si no que tiene que ver con la inflamación periapical del diente deciduo.^{29,33}

Souza y col. en su estudio acerca de la Prevalencia de defectos del esmalte en premolares cuyos predecesores fueron tratados con extracciones o pasta antibiótica, llegaron a la conclusión de que la prevalencia de defectos del esmalte fue mayor en los premolares cuyos antecesores fueron eliminados debido a necrosis, seguidos por los tratados con pasta CTZ y los que estaban sanos en el momento de la exfoliación.³³ Sin embargo son necesarias más investigaciones experimentales de laboratorio y clínicas que respalden científicamente la validez de estos antibióticos en la práctica pediátrica.^{28,32,33} Una alternativa para minimizar estos posibles efectos sería disminuir la proporción de los antimicrobianos tetraciclina y cloranfenicol en la composición de la pasta.³⁴

Otra desventaja es el hecho de que las pastas antibióticas no tiene una estandarización, no existe un control de calidad sobre sus componentes y esto puede repercutir en el poder antimicrobiano de la pasta debido a la procedencia, naturaleza y pureza de los medicamentos involucrados en la mezcla, pudiendo generar resistencia antibiótica a largo plazo.³⁴

El uso indiscriminado de antibióticos es considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un problema mundial y, como consecuencia, ha provocado el desarrollo de bacterias resistentes.³⁸

La evaluación de la pasta CTZ en diferentes concentraciones en este estudio tuvo como objetivo promover el uso racional de medicamentos, justificado por el hecho de que los órganos y tejidos de los niños están en desarrollo y son más susceptibles a los efectos adversos de la medicación además la respuesta a los medicamentos está condicionada por factores como la edad, el tamaño, el peso corporal, la etapa de desarrollo, el estado nutricional, la administración concomitante de otros fármacos, el momento de la administración y la enfermedad preexistente.³⁸

En el presente estudio se buscó y estudió la capacidad antimicrobiana de diferentes concentraciones de CTZ. En la literatura hay artículos donde se demuestra la capacidad antimicrobiana de dicha pasta. Sin embargo, no existen estudios en la literatura que comparen diferentes proporciones de antibióticos en la pasta CTZ, lo que imposibilita realizar comparaciones más específicas con nuestro estudio.

Reis y col. realizaron un estudio donde analizaron la actividad antimicrobiana de la pasta CTZ contra *E. faecalis*, la actividad antimicrobiana se evaluó mediante halos de inhibición y observaron halos de inhibición, sugiriendo que la pasta CTZ es eficaz para inhibir el crecimiento de los microorganismos gram positivos.²⁹ Los resultados son congruentes con el presente trabajo dado que se comprobó que la pasta tiene actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas.³⁰

Guedes y col. en su artículo “Análisis antimicrobiano de diferentes pastas de obturación de conductos radiculares utilizadas en odontopediatría” compararon

mediante difusión en agar, la eficacia antimicrobiana de diferentes pastas de obturación de conductos utilizadas en odontopediatría, incluida la pasta CTZ contra cinco cepas microbianas (*S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* y *C. albicans*). Concluyeron que la pasta CTZ obtuvo inhibición de crecimiento contra las cepas mencionadas, logrando este resultado a las 24 hrs. El presente estudio concuerda con esta investigación, ya que obtuvimos inhibición de crecimiento en 24 hrs, a pesar de que utilizamos un método diferente.³¹

Oliveira y cols. realizaron un estudio donde evaluaron la acción antimicrobiana de la pasta CTZ en tres diferentes proporciones (1:1:1, 1:1:2 y 1:1:6) por difusión en agar en los microorganismos: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Encontraron que las diferentes proporciones mostraron eficacia antimicrobiana contra los microorganismos a las 24 horas, al igual que en el presente estudio.³²

En este estudio la prueba de inhibición en caldo por microdilución en pozos arrojó que las diferentes diluciones de CTZ que se estudiaron, 0.05 mg/ml, 0.1mg/mL, 0.3 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL y 1.5mg/mL fueron todas efectivas para la inhibición de las cepas bacterianas de *E. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus*, en comparación con el grupo control. Esto nos indica que la pasta es efectiva contra bacilos gram negativos y cocos gram positivos. Observamos que *E. faecalis* obtuvo el porcentaje más alto 84% con mayor inhibición en la dilución de 1.5mg/mL.

La cepa de *Staphylococcus aureus* obtuvo menor inhibición en comparación de *Enterococcus faecalis* y *Escherichia coli*.

Se determinó la dosis efectiva 50 de cada concentración, la cual considera la concentración necesaria de un fármaco para inhibir el crecimiento del 50% de una población de microorganismos, como se muestra en los cuadros 1, 2 y 3, donde la dilución más baja en *E. faecalis* (0.05mg/mL) obtuvo un 51%, *E. coli* (0.1mg/mL) 65% y *S. aureus* (0.1 mg/mL) 56% respectivamente. También se observó que a medida que aumenta la concentración hay una mayor inhibición de crecimiento bacteriano.

El éxito en la inhibición de la pasta CTZ puede deberse al efecto sinérgico que produce su combinación, ya que el cloranfenicol y la tetraciclina son antibióticos de amplio

espectro con propiedades bacteriostáticas y bactericidas contra bacterias Gram positivas y Gram negativas además el óxido de zinc más eugenol tienen acción antimicrobiana desnaturalizando la pared celular bacteriana del microorganismo.³⁵

A partir del análisis de varianza se determinó una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones evaluadas, las diluciones de 0.05mg/mL, 0.1mg/mL, 0.3 mg/mL obtuvieron un resultado estadísticamente significativo ($p < 0.05$) y las diluciones de 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL y 1.5mg/mL no tuvieron un resultado estadísticamente significativo en las 3 cepas estudiadas comparadas con el grupo control.

Nuestra hipótesis ha sido aceptada por los resultados obtenidos, los cuales demuestran que la dilución de 0.3 mg/mL presenta la mejor capacidad antimicrobiana. Por lo tanto, recomendamos utilizar esta dilución.

10. Nuevas perspectivas de investigación

Realizar estudios adicionales in vitro en dientes primarios extraídos utilizando la concentración de .1mg de CTZ más Eugenol.

11. Conclusiones.

- Obtuvimos cepas de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus in vitro* de manera apropiada.
- Se midieron las inhibiciones en caldo y las unidades formadoras de colonia utilizando la técnica de recuento bacteriano por goteo en placa de las cepas estudiadas, aplicando las diferentes concentraciones (0.05 mg/mL., 0.1mg/mL., 0.3 mg/mL., 0.5 mg/mL., 1.0 mg/mL., 1.5mg/mL) y se concluyó que la solución que dio una concentración mínima inhibitoria fue la concentración de 1.0 mg/mL en las cepas de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

12. Bibliografía.

1.- Santos H, Moura D, Branco C, Silva M, Lopes A, Almeida D. Prevalence of enamel defects in premolars whose predecessors were treated with extractions or antibiotic paste. *Oral Health Prevent Dent*; 18: 793–798, 2020. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32895663/>

2.- Coll J, Dhar V, Vargas K, Chen C, Crystal Y, Alshamali S, Marghalani A. Use of non-vital pulp therapies in primary teeth. *Pediatr Dent*; 42: 337– 349, 2020. Disponible en : https://www.aapd.org/globalassets/media/policies_guidelines/g_non-vpt.pdf

3.- Vergara Arrieta, Díaz Caballero, Alvear Perez, J. Eficacia de la pasta triantibiótica en conductos radiculares infectados con *Enterococcus faecalis*. Revisión de literatura. *Ciencia Y Salud Virtual*. 20135(1), 103–108. <https://doi.org/10.22519/21455333.326>

4.-Perona S, Mungi S. Tratamiento Endodóntico no Instrumentado en dientes deciduos. *Rev odontol pediat*. 2015. Vol 4

5.- Ghannam M, Alameddine H, Bordoni B. Anatomy, Head and Neck, Pulp (Tooth). In: *StatPearls*. StatPearls Publishing 2021; PMID: 30725797. Disponible en: <https://europepmc.org/article/NBK/nbk537112>

6.- López A, González R, Ruíz J, Rivera J. Inmunidad e inflamación en el proceso quirúrgico. *Rev. Fac. Med. (Méx.)*. 2018; 7-15. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422018000400007&lng=es.

7.- Perona G, Mungi S. Tratamiento Endodóntico no Instrumentado en dientes deciduos. *ALOP*; 2021 4(1). Disponible en: <https://doi.org/10.47990/alop.v4i1.3>

8.- American Academy of Pediatric Dentistry. Pulp therapy for primary and immature permanent teeth. *The Reference Manual of Pediatric Dentistry*. Chicago, Ill.: American Academy of Pediatric Dentistry; 2022:415-23.

- 9.- Coll J, Dhar V, Vargas K, et al. Use of Non-Vital Pulp Therapies in Primary Teeth. *Pediatr Dent* 2020;42(5):337-49. Disponible en : <https://www.aapd.org/research/oral-health-policies--recommendations/use-of-non-vital-pulp-therapies-in-primary-teeth/>
- 10.- Al-Nahlawi T, Doumani M, Alalo HA, Habib A. Dentists' Knowledge, Attitude and Practice of Root Canal Treatment Procedure: Survey-based Research. *J Contemp Dent Pract* [Internet]. marzo de 2019 [citado 30 de septiembre de 2021];20(3):347-54. Disponible en: <https://www.thejcdp.com/doi/10.5005/jp-journals-10024-2521>
- 11.- Canalda Sahli C., Brau Aguade E. *Endodoncia Tecnicas Clinicas y Bases Cientificas*. 3ra Ed. Elsevier 2014.
- 12.- Salas López E., Casas Flores S, López Lozano N. Analysis of bacterial communities of infected primary teeth in a Mexican population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2020 Sep 1;25 (5): e668-74. Disponile en : doi:10.4317/medoral.23689
- 13.- Sun X, Wang S, Yang Y, Luo C, Hou B. Study of invasion and colonization of *E. faecalis* in microtubes by a novel device. *Biomed Microdevices* [Internet]. 2016;18(5). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10544-016-0108-5>
- 14.- Udayabhanu S, Ramesh S, Selvanayagam DP. Preference and Usage f Intracanal Medicaments During Endodontic Treatment - A Retrospective Study *J Adv Med Dent Sci Res*. 2020;8(12):4.
- 15.- Rajsheker S, Mallineni SK, Nuvvula S. Obturating Materials Used for Pulpectomy in Primary Teeth- A Review. *J Dent Craniofacial Res*. 2018;03(01):19.
- 16.- Al-Nahlawi T, Doumani M, Alalo HA, Habib A. Dentists' Knowledge, Attitude and Practice of Root Canal Treatment Procedure: Survey-based Research. *J Contemp Dent Pract*. 2019; 20(3):347-54. Disponible en: <https://www.thejcdp.com/doi/10.5005/jp-journals-10024-2521>

17.- Love RM, Diagnostic O, Sciences S. Endodontic Treatment In The Primary Dentition. Aust Endod Journa. 2010;30(2):59–68.

16.- - Al-Nahlawi T, Doumani M, HA, Habib A. Dentists' Knowledge, Attitude and Practice of Root Canal Treatment Procedure: Survey-based Research. J Contemp Dent Pract. 2019;20(3):347-54. Disponible en: <https://www.thejcdp.com/doi/10.5005/jp-journals-10024-2521>

18.- AlSaeed T, Nosrat A, Melo MA, Wang P, Romberg E, Xu H, et al. Antibacterial Efficacy and Discoloration Potential of Endodontic Topical Antibiotics. J Endod. 2018 Jul;44(7):1110–4.

19.- Mehdi HE, Hakima C. Lesion Sterilization and Tissue Repair Therapy (LSTR) of Necrotic Primary Molars: Case Report. Int J of Research Studies in Med and Health Sciences. 2017;2(4):1-4.

20.- González D, Trejo P, Carmona D. Técnica de endodoncia no instrumentada mediante el uso de la pasta CTZ. Rev Estomat. 2018 ;18(2):27–32 Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/11862302.pdf>

21.- Luengo J, Ramos A, Hernández E. Efectividad Clínica y Radiográfica de la Pasta Antibiótica CTZ en Pulpotomías de Molares Primarios. Ensayo Clínico Aleatorio Controlado. Int J Odonto. 2016; 10 (3): 425-431. Disponible en : <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2016000300008>

22.- Roldan R. Introducción a la toxicología. 1era ed. Zaragoza: UNAM, 2016.

- 23.- Sahm, D. & Weissfeld, A. Diagnóstico Microbiológico. 12ª ed. Argentina Buenos Aires: Méd Panam S.A. 2008 Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&pg=PA80&dq=tecnica+de+la+tincion+de+gram&hl=es&sa=X&ei=6gWaVYawBceWgwTigL_YCQ&ved=0CCAQ6AEwAQ#v=onepage&q=tecnica%20de%20la%20tincion%20de%20gram&f=false
- 24.- Souza-Gugelmin MCM, Medeiros AS, Nelson-Filho P. Prevalencia de microorganismos en conductos radiculares de dientes temporales humanos con pulpa necrótica y Lesiones periapicales crónicas. *Pesqui Odontol Bras* 2003; 17(4):367-71. <https://doi.org/10.1590/S1517-74912003000400013>
- 25.- Silva LAB, Nelson-Filho P, Faria G, Souza-Gugelmin MCM, Ito IY. Perfil bacteriano en dientes primarios con pulpa necrótica y lesiones periapicales. *Braz Dent J* 2006; 17(2):144-8. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402006000200012> [18] Queiroz
- 26.- Nacif MCAM, Alves FRF. *Enterococcus faecalis* en endodoncia: Un desafío para el éxito. *Rev Bras Odontol* 2010; 67(2):209-14.
- 27.- Zoletti GO, Pereira EM, Schuenck RP, Teixeira LM, Siqueira Jr JF, Santos KRN. Caracterización de factores de virulencia y diversidad clonal de aislamientos de *Enterococcus faecalis* de conductos radiculares dentales tratados. *Res Microbiol* 2011; 162(2):151-8. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.09.018>
- 28.- American Academy of Pediatric Dentistry. Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth. *Pediatr Dent*. 2022;40(6):343-351.
- 29.- Santos Junior VE, Alencar Filho AVA, Leite ACGL, Rosenblatt A. Existe Associação entre Manchas de Esmalte em Pré-Molares e Tratamento Endodôntico nos seus Antecessores Decíduos? *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2013; 13(1):17-21.
- 30.- Reis BS, Barbosa CCN, Soares LC, Brum SC, Barbosa OLCB, Marques MM. Análise “in vitro” da atividade antimicrobiana da pasta ctz utilizada como material

obturador na terapia pulpar de dentes decíduos. Revista Pró-Universus. 2016; Jul/Dez;07(3):39-42.

31.- Amorim LFG, Toledo AO, Estrela CRA, Decurcio DA, Estrela C. Antimicrobial analysis of different root canal filling pastes used in pediatric dentistry by two experimental methods. Braz Dent J. 2006;17(4):317-22.

32.- Oliveira S, Omena ALCS, Lira GAL, Ferreira IA, Imparato JCP, Calvo AFB. Do Different Proportions of Antibiotics in the CTZ Paste Interfere with the Antimicrobial Action? In Vitro Study. Pesqui Bras Odontop Clín Integr. 2019;19:e4801. DOI: 10.4034/PBOCI.2019.191.115

33.- Sousa HCS, Lima MDM, Lima CCB, Moura MS, Bandeira AVL, Deus Moura LFA. Prevalence of Enamel Defects in Premolars Whose Predecessors Were Treated with Extractions or Antibiotic Paste. Oral Health Prev Dent. 2020 Sep 4;18(1):793-798. doi: 10.3290/j.ohpd.a45083. PMID: 32895663.

34.- Portes Zeno, A. P., Marañón-Vásquez, G. A., Guimarães Primo, L. ., Braga Pintor, A. V. ., & de Castro Costa, M. . (2022). Pasta CTZ para abordaje endodóncico de dientes primarios: Una revisión narrativa de la literatura. *Revista De Odontopediatría Latinoamericana*, 12(1). <https://doi.org/10.47990/alop.v12i1.218>

35.- González N, Trejo Q, De León T. Técnica de endodoncia no instrumentada mediante el uso de la pasta CTZ. Rev. Estomat.2010;18(2):27:32.Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-868166>

36.- Hegde A, Pallavi L. Prevalence of selected microorganisms in the pulp space of human deciduous teeth with irreversible pulpitis. Endodontology 2013; 25(1): 107-111.

37.- Angarita D, Forero E, Gutiérrez N, Yañez F, Romero C. Análisis de Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus y Sandida albicans en núcleos colados en metal base. rev fac odontol univ antioq; 28(2): 292-310. Disponible en: <https://doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n2a4>.

38.- Pereira A, Silveira V, Rosa L, Rocha R. Drug's prescription in pediatric dentistry. Rev Odontol UNESP 2009; 38(4)256-62.

39.- Vargas J, Mamani R. Actividad antimicrobiana in vitro de pastas 3MIX-MP y CTZ contra el Enterococcus faecalis ATCC® 29212. Odontol. Sanmarquina 2023; 26(1): e23182 Disponible en: <https://doi.org/10.15381/os.v26i1.23182>.

40.- Pérez M, Fernández L ,Rodríguez M. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. Rev Esp de Quimi. 2018, 27(2), 69-85

