



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad en Odontopediatría

**“ANÁLISIS *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE TRES PASTAS
ANTIBIÓTICAS EN BACTERIAS AISLADAS DE CAVIDAD ORAL DE PACIENTES
PEDIÁTRICOS”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la
Especialidad en Odontopediatría

Presenta:

M.E. Mariana Castillo Aguillón

Dirigido por:

C.D.E.O. Laura Celeste Herrera Alaniz

C.D.E.O. Laura Celeste Herrera Alaniz
Presidente

C.D.E.O. Héctor Mancilla Herrera
Secretario

C.D.E.O. Claudia Verónica Cabeza Cabrera
Vocal

L.O.E.O. Cynthia Castro Martínez
Suplente

D. en C. Rubén Abraham Domínguez Pérez
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Junio 2020
México

Resumen

Introducción: La Esterilización de la Lesión y Reparación Tisular (LTSR) es una terapia endodóntica que usa combinaciones de medicamentos para eliminar o minimizar la cantidad de microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares del diente deciduo con necrosis pulpar sin preparación químico - mecánica previa. Dos de las principales pastas antibióticas utilizadas para esta técnica son la pasta Guedes-Pinto, Guedes-Pinto Modificada (GPM) y CTZ. (Takushige et al., 2004; Trejo-Quiroz et al., 2010) El paramonocloronefol alcanforado, componente de la pasta GPM, no se comercializa en México por lo que se realizó una tercera pasta, GPM2, sin este. **Objetivo:** Determinar qué pasta tiene mayor efecto antimicrobiano sobre *E. faecalis*, *S. mutans*, *Micrococcus ssp.*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, y *K. pneumoniae*, CTZ, GPM o GPM2. **Material y métodos:** Estudio prospectivo, transversal, experimental y comparativo. Se compararon los efectos antimicrobianos de las pastas CTZ, GPM y GPM2 contra siete bacterias comúnmente encontradas en cavidad oral. **Resultados:** Los diámetros de los halos de inhibición de la pasta CTZ son mayores que los diámetros de las pastas GPM y GPM2. Al aplicar la prueba ANOVA y Tukey se determinó una diferencia significativa (<0.0001) entre los halos de inhibición de las pastas antibióticas, así como entre las bacterias estudiadas. **Conclusión:** La pasta CTZ tiene mayor actividad antimicrobiana que las pastas GPM y GPM2, sin embargo depende de la bacteria, pues esta actividad antimicrobiana no se ve reflejada de igual manera en todos los casos. No hay diferencia estadísticamente significativa entre las pastas GPM y GPM2.

Palabras clave: CTZ, Guedes – Pinto Modificada, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*.

Summary

Introduction: Lesion Sterilization and Tissue Repair (LTSR) is an endodontic therapy that uses different drug combinations to eliminate or minimize the amount of microorganisms present in the root canal system of primary teeth with necrotic pulp without prior chemical - mechanical preparation. Two of the most used antibiotic pastes for these therapy are Guedes – Pinto, Guedes Pinto Modified (GPM) and CTZ. (Takushige et al., 2004; Trejo-Quiroz et al., 2010) Paramonochlorophenol camphor can't be found Mexico's market, so we did a third paste, GPM2, without it. **Objective:** To determine which paste has the most antimicrobial effect over *E. faecalis*, *S. mutans*, *Micrococcus*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*, CTZ, GPM or GPM2. **Materials and methods:** Prospective, cross-sectional, experimental and comparative study. We compared the antimicrobial effect of CTZ, GPM and GPM2 against seven bacteria commonly found in oral cavity. **Results:** The diameters of inhibition zone of CTZ are bigger than the ones for GPM and GPM2 pastes. When ANOVA and Tukey test was applied, a significant difference (0.0001) was determined between the inhibition zones of the antibiotic pastes, as well as among for the bacteria studied. **Conclusions:** CTZ paste has the most antimicrobial effect than GPM and GPM2, nevertheless it depends on the bacteria, because this antimicrobial activity is not the same in all the cases. There is no significant difference between GPM and GPM2.

Key words: CTZ, Guedes-Pinto Modified, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*.

Dedicatoria

A mi familia atípica.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Agradecimientos

A mis padres Tita y José Eduardo por creer en mí, por haberme inculcado valores con los que he logrado esta meta, por su apoyo y esfuerzo. Por enseñarme a dar lo mejor de mí y a hacer las cosas con el corazón.

A mis hermanos y compañeros de vida, Jose y Meli por su amor incondicional, y por enseñarme a festejar las cosas buenas de la vida, por pequeñas que sean.

A Yeyi, por ser un pilar fundamental en mi vida, una guía, una segunda madre.

A Charis, por su invaluable y delicioso apoyo durante este camino.

A las Chavis por ponerle vida a estos años, por estar en momentos tan difíciles y convertirse en mi familia queretana. En especial a Kass y a Nadia.

Agradezco al Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez por compartir su conocimiento, su tiempo, paciencia y dedicación, sobretodo en el laboratorio, para la elaboración de esta investigación.

A todos mis maestros, por contagiarme su amor por la Odontopediatría, en especial a la Dra. Laura Celeste Herrera Alaniz y al Dr. Guillermo Ortiz Villagómez por ser gran parte de este proyecto.

A la Universidad Autónoma de Querétaro por abrirme sus puertas para realizar mis estudios de posgrado.

Índice

Contenido	Página
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de tablas	vii
Índice de gráficas	viii
Abreviaturas y siglas	viii
I. Introducción	1
II. Antecedentes	3
III. Fundamentación teórica	7
IV. Hipótesis o supuestos	15
V. Objetivos	16
V.1 General	16
V.2 Específicos	16
VI. Material y métodos	17
VI.1 Tipo de investigación	17
VI.3 Muestra y tipo de muestra	17
VI. 3.1 Criterios de selección	18
VI. 3.2 Variables estudiadas	19
VI. 4.Técnicas e instrumentos	21

VI. 5. Procedimientos	22
VI. 5.1 Análisis Estadístico	30
VII. Resultados	31
VIII. Discusión	38
IX. Conclusiones	41
X. Propuestas	42
XI. Bibliografía	43

Dirección General de Bibliotecas UNAQ

Índice de Tablas

Tabla		Página
1	Recolección de datos de <i>Enterococcus faecalis</i>	31
2	Recolección de datos de <i>Streptococcus mutans</i> .	32
3	Recolección de datos de <i>Micrococcus ssp.</i>	32
4	Recolección de datos de <i>Staphylococcus aureus</i> .	33
5	Recolección de datos de <i>Pseudomonas fluorescens</i> .	33
6	Recolección de datos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	34
7	Recolección de datos de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	34
8	Comparación de los halos de inhibición de las pastas antibióticas contra las 7 diferentes bacterias analizadas	36
9	Comparación entre pastas antibióticas	37

Índice de Graficas

Gráfica		Página
1	Comparación de los promedios de los halos de inhibición de las pastas antibióticas contra las bacterias analizadas.	35

Abreviaturas y siglas

GP – Pasta Guedes-Pinto

GMP – Pasta Guedes-Pinto Modificada

GPM2 – Pasta Guedes-Pinto Modificada sin paramonoclorofenol alcanforado

PMCF – Paramonoclorofenol alcanforado

LTSR - Lesion Sterilization and Tissue Repair (Esterilización de Lesiones y Reparación Tisular”)

I. Introducción

Uno de los principales objetivos en Odontopediatría es preservar el diente primario hasta su exfoliación para evitar problemas en la masticación, estética, fonética y maloclusión.

Desafortunadamente una de las principales causas de pérdida de dientes primarios es por caries complejas que llegan a provocar necrosis pulpar. En esta patología, la microflora es de naturaleza mixta con predominio de bacterias anaerobias facultativas y estrictas provenientes del medio bucal.

La complejidad del tratamiento de conductos en el paciente pediátrico ha llevado al clínico a desarrollar diferentes técnicas, como es la técnica endodóntica no instrumentada también conocida como esterilización de la lesión y reparación tisular, técnica que no lleva una preparación químico mecánica de los conductos radiculares, si no que únicamente se limita a la remoción de la cámara pulpar y la colocación de diferentes medicamentos, principalmente antibióticos, bajo la teoría de que si hay una esterilización o limitación de la lesión; podrá producirse una reparación de los tejidos.

Esta es una técnica utilizada desde los años 60 y en México ha causado revuelo en los últimos años. Se ha comprobado que es una técnica que funciona, sin embargo como todo tratamiento odontológico, la selección del caso es de suma importancia para su éxito ya que hay estudios que concluyen en que es una técnica que no sustituye al tratamiento de conductos convencional, sobre todo a largo plazo.

CTZ y Guedes-Pinto (GP), son algunas de las pastas más utilizadas para esta técnica, sin embargo, la pasta GP contiene Rifocort®, un ungüento que no es comercializado en varios países, por lo que en estos casos, se hace una modificación de la pasta sustituyendo los componentes del Rifocort®. Formándose así la pasta Guedes Pinto Modificada (GPM): Rifamicina SV sódica, prednisona, óxido de zinc, yodoformo y paramonoclorofenol alcanforado (PMCF). Sin embargo

este último no se comercializa en México desde hace algunos años por su citotoxicidad, por lo que en este estudio se hizo una tercera pasta a la que no se le agregó este componente para saber qué tan necesario es para la efectividad de la pasta.

Al ser la necrosis pulpar una patología causada por una gran variedad de bacterias, se realizó el estudio con la mayor cantidad de bacterias posible, estas comúnmente encontradas en cavidad oral. Algunas se obtuvieron de catálogo, aisladas clínicamente o incluso de cultivo hospitalario. Fueron expuestas a las pastas las siguientes bacterias, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Micrococcus ssp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Con el objetivo de saber, en caso de decidir realizar una endodoncia no instrumentada, qué pasta tendría mayor acción antimicrobiana para así permitir una resolución de la sintomatología del paciente, conservar el diente deciduo y poder ofrecer un mejor pronóstico.

II. Antecedentes

La pasta CTZ fue sugerida por Soller y Capiello, en 1959, para el tratamiento de molares temporales con compromiso pulpar, siendo una técnica caracterizada por no requerir de instrumentación de los conductos radiculares denominada Técnica de Endodoncia No Instrumentada. Dicha pasta está compuesta de una parte de tetraciclina (500mg), una parte de cloranfenicol (500mg), dos partes de óxido de zinc tipo I (1000mg) y eugenol (una gota). Capiello y Soller, realizaron un estudio en 100 pacientes, entre 2 y 5 años de edad, que presentaban dientes temporales, con indicación de terapia pulpar. Los resultados clínicos y radiográficos fueron excelentes tanto en pulpotomías vitales como en las no vitales (Denari, 1996).

En Londrina, Brasil, un estudio clínico y radiográfico realizado por Walther, en 1965, se utilizó la pasta CTZ, en molares temporales, con necrosis pulpar, teniendo como tratamiento una pulpotomía. Se observó un 70% de éxito en las intervenciones clínicas. El estudio fue realizado en 116 pacientes, a quienes se les realizaron 216 pulpotomías. Se consideró como éxito clínico aquellos dientes que al menos con 6 meses después del tratamiento no presentaron recidiva del proceso infeccioso, alteraciones clínicas visuales de los tejidos periodontales y de soporte, así como la desaparición de la lesión clínica inicial. Mientras tanto, los resultados radiográficos tuvieron una incidencia mayor de fracaso que los resultados clínicos, ya que en algunos casos, se observaron áreas radiolúcidas en la región interradicular de los molares temporales, con destrucción de la lámina dura en la cámara pulpar, observándose además signos de resorción interna (Walther, 1965).

Guedes Pinto et al. (1981) realizaron un trabajo clínico que agrupaba 45 dientes con pulpa afectada y utilizaron como material obturador una pasta. Después de un seguimiento de un año, solo hubo un reporte de un caso fracasado. Estos autores afirman que el material obturador presentaba una óptima propiedad antiséptica, era reabsorbible y reducía la inflamación. Dicha pasta se

caracterizaba por la lenta liberación de yodo y del ungüento Rifocort® compuesto por antibiótico de amplio espectro, rifamicina y un potente corticoide, prednisona, que garantiza el requisito antiinflamatorio y bactericida necesario para el éxito del tratamiento pulpar (Carolina et al., 2007).

Guedes - Pinto (1992) en su estudio “pulpotomía en dientes deciduos con la pasta Guedes – Pinto observación clínica y radiográfica”, en 59 molares deciduos controlados por periodos de 12 a 17 meses en 43 dientes y entre 18 a 24 meses en 16 dientes, obteniendo un éxito de 98.22% de los casos, recomendando como material óptimo para pulpotomías en molares deciduos.

En 1996, la Unidad de Investigación en Cariología de la Universidad de Niigata en Japón, desarrolla el concepto de terapia de "esterilización de lesiones y reparación de tejidos LSTR", que emplea el uso de una combinación de fármacos antibacterianos para la desinfección de lesiones infecciosas orales, incluidas las lesiones dentinarias, pulpares y perirradiculares utilizando principalmente Metronidazol. Bajo la teoría de que se puede esperar la reparación de los tejidos dañados si las lesiones se desinfectan. Hoshino & Takushige en 1998, después de amplios estudios *in vitro* e *in situ* concluyen su trabajo en la mezcla de 3 antibióticos efectivos contra las bacterias en cavidad oral (Pasta 3mix) siendo la mezcla de Metronidazol, Ciprofloxacino y Minociclina (Takushige et al., 2004).

Amorim et al. (2006) compararon el efecto antimicrobiano de cinco pastas de obturación de conductos en piezas deciduas: pasta Guedes Pinto, pasta de óxido de zinc y eugenol, pasta de hidróxido de calcio, pasta de cloranfenicol más cloruro de tetraciclina más óxido de zinc y eugenol y Vitapex. Los resultados indican que todos los materiales de obturación mostraron eficacia contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Candida albicans*. La pasta de cloranfenicol más óxido de zinc eugenol presentó mayor actividad antimicrobiana, seguido de pasta Guedes – Pinto, la pasta de óxido de zinc y eugenol y pasta de hidróxido de calcio.

Fabiane Piva (2009), evalúa los siguientes materiales: pasta Guedes-Pinto, pasta CTZ, OZE (óxido de zinc y eugenol), Calen (material a base de CAO₂H), L&C (CaOH + aceite de oliva) y MTA (trióxido mineral agregado), utilizada en: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*. La pasta CTZ y Guedes-Pinto presentaron halos de inhibición estadísticamente mayores que los demás materiales ($p < 0,001$). El L&C y MTA no presentaron halos de inhibición (Piva et al., 2009).

En el año 2010, en Perú, Dra. Maura Márquez modifica la pasta Guedes Pinto. Esta modificación se basa en usar los componentes originales del Rifocort, como son la Rifamicina SV sódica 2.5ml y Prednisona 5.0mg; junto con el paramonoclorofenol alcanforado 0.1ml y el yodoformo 0.30mg, obteniendo así la pasta Guedes Pinto – Modificada (Márquez, 2010).

La Revista Internacional de Odontopediatría (International Journal of Paediatric Dentistry) en 2012 publica un estudio llamado "Tasas de éxito de una mezcla de antibióticos de ciprofloxacino, metronidazol y minociclina usados en el tratamiento endodóntico sin instrumentación de molares primarios mandibulares con afectación de la pulpa cariosa" concluyendo que el tratamiento endodóntico sin instrumentación con Pasta 3Mix demuestra un buen éxito clínico (75%), pero las tasas de éxito en general, clínico y radiográfico a los 24-27 meses son menores (36.7%). Sugiriendo que este tipo de tratamiento no reemplaza el tratamiento del conducto radicular convencional a largo plazo (Trairatvorakul y Detsomboonrat, 2012).

En el mismo año la misma revista publica un artículo llamado "Evaluación *in vivo* de la esterilización de lesiones y la reparación de tejidos en la terapia de pulpa dental primaria utilizando dos combinaciones de antibióticos". En la que concluye que la técnica LSTR puede ser aplicada en pacientes especiales, cuando el tratamiento endodóntico no puede ser realizado por condiciones médicas. Para controlar infecciones recurrentes sin prolongar la antibioticoterapia sistémica y que

es imprescindible tomar en cuenta el tiempo de exfoliación del órgano dentario a tratar y la edad del niño para poder predecir el éxito de este tipo de tratamientos (Jaya et al., 2012).

Gonçalves et al. (2015) aislaron de 6 niños con daño pulpar irreversible causado por caries diferentes cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, posteriormente analizaron la actividad microbiana de las pastas antibióticas; Guedes-Pinto, CTZ, Calen PMCC y ZOE. La pasta CTZ y Guedes-Pinto mostraron mayor diferencia estadística significativa en cuanto a la acción antimicrobiana sobre las cepas ya citadas que las pastas Calen PMCC y ZOE, mostrando mayor inhibición la pasta CTZ que la pasta Guedes-Pinto.

II. Fundamentación teórica

Una de las enfermedades de mayor prevalencia e incidencia en los niños preescolares y escolares es la caries dental, causando ausentismo escolar, dolor y pérdida temprana de dientes. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido la caries dental como un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinado por el reblandecimiento del tejido duro del diente que puede evolucionar hasta la formación de una cavidad. Si no se atiende oportunamente, afecta la salud general y la calidad de vida de los individuos (Messer, 2000).

La dentición temporal tiene una importancia fundamental por su estética, fonación, masticación y por el bienestar psicosocial del infante; además de mantener el espacio necesario para la erupción favorable de los dientes permanentes (Abuquerque y Marinho 2008). Por lo que uno de los propósitos de la odontología pediátrica es mantener a los dientes primarios en condiciones anatómicas y funcionales hasta su exfoliación fisiológica y erupción del diente permanente. Para así, prevenir cambios en la masticación, habla y fonética, mantener la longitud del arco, estética y prevenir hábitos orales (Holland y Cooksley 2005).

Un gran número de casos de caries profundas, generalmente, requieren la necesidad de algún tipo de terapia pulpar (Abuquerque y Marinho, 2008).

La infección de conductos radiculares y periapicales de dientes primarios como consecuencia de la caries dental es un problema frecuente en Odontopediatría (Takushige et al., 2004) Según un estudio realizado por la Asociación Dental Mexicana en 2009, en 12 entidades federativas y con una muestra de por 7105 niños en edad preescolar, se encontró que del número de niños examinados la prevalencia de caries fue del 91% (Guerrero-Reynoso et al., 2009).

Algunos factores etiológicos para la enfermedad pulpar y periapical son factores bacterianos, las bacterias y sus productos representan las causas más

frecuentes de enfermedad endodóntica. La respuesta pulpar a la caries es inflamatoria debido a los túbulos dentinarios son permeables, pueden llegar a la pulpa a través de varias vías, como caries dental, periodonto, traumatismos, filtración marginal, anomalías de desarrollo y circulación sanguínea (Ando y Hoshino., 1990).

Se han llegado a aislar entre 800 y 1000 diferentes bacterias de cavidad oral a través de los años, estas varían en cantidad y diversidad dependiendo de la edad y el estado de salud de la persona. La diversidad del microbioma de la cavidad oral varía desde bacterias, arqueas, virus y varias especies de microeucariotas, por lo que es un desafío encontrar marcadores válidos de salud y enfermedad bucal, ya que esta diversidad bacteriana incluso varía dependiendo del lugar dentro de la cavidad oral (Gómez y Nelson., 2017).

Uno de las principales y primeras bacterias en colonizar la cavidad oral es *Streptococcus* (*S. mutans*, *S. epidermidis* and *S. salivarius*) y *Fusobacterium*. Desde los primeros años y la edad adulta, el microbioma oral se vuelve significativamente más diverso, siendo colonizada la cavidad oral por *E. coli* y *Pseudomonas* así como bacterias productoras de ácido láctico como *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri* y *Streptococcus*, todos asociados con el intestino, la piel o la leche materna. Por el contrario, *Fusobacteria*, *Tenericutes*, *Synergistetes*, comienzan a dominar hacia el primer año de vida, específicamente, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Rothia*, *Treponema* y *Streptococcus mutans*, vinculados a microbiomas más maduros. Los microbiomas orales potencialmente cariogénicos parecen surgir en la infancia en etapas de transición más maduras y probablemente por mayor exposición al ambiente externo (Gómez y Nelson., 2017).

Las infecciones endodónticas son enfermedades inflamatorias que cursan de manera sintomática o asintomática causadas por una infección microbiana de los conductos radiculares (Siqueira, 2002). Se ha demostrado que la microbiota asociada con las infecciones endodónticas comprende una mezcla compleja de especies bacterianas. Varias especies bacterianas, particularmente bacterias anaerobias Gram negativas, se han implicado en la etiología (Siqueira et al., 2000).

De acuerdo con Cogulu et al. (2008) Las especies con mayor prevalencia en dientes deciduos con necrosis pulpar son *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola*. Asociando directamente *Enterococcus faecalis* y *Treponema denticola* con radiolucidez periapical y dolor. Otros autores como Sandro et al., (2015) aislaron *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* entre otros de pacientes pediátricos con necrosis pulpar.

La respuesta a traumatismos tales como golpes o accidentes puede ser variable, algunas pulpas aparentemente curan sin efectos adversos; mientras otras experimentan una necrosis. Los traumatismos que producen una exposición pulpar o dentinaria son causa de inflamación por posibilitar la llegada de bacterias a la pulpa; cuando el traumatismo no ocasiona una comunicación de la pulpa y la pulpa está cubierta clínicamente por dentina sana, algunas bacterias pueden invadir la pulpa dental a través de algunos túbulos dentinarios (Hoshino et al., 1992).

Los procedimientos restauradores que generan calor y desecación de túbulos dentinarios, productos y sustancias químicas que puedan provocar una irritación pulpar, raspado y movimientos ortodónticos demasiado bruscos, son algunos factores iatrogénicos que pueden ocasionar enfermedad pulpar así como la resorción interna o factores idiopáticos (Ando y Hoshino, 1990).

Las enfermedades pulpares se clasifican en: Pulpitis reversible, es el estado de inflamación transitoria. Se produce un dolor agudo pero temporal debido a diversos irritantes externos, como caries poco profundas. Si estos estímulos son tratados y diagnosticados a tiempo, puede recuperarse la vitalidad pulpar (Ando y Hoshino, 1990).

La pulpitis irreversible consiste en la inflamación de la pulpa sin capacidad de recuperación, a pesar de cesen los estímulos externos causantes del proceso inflamatorio (Trejo-Quiroz et al., 2010).

La necrosis pulpar es la muerte pulpar donde terminan todos los procesos metabólicos de este órgano, con pérdida de estructura como consecuencia final de un proceso patológico con el cual la pulpa no puede reintegrarse a la normalidad por no tener capacidad de reacción (Ando y Hoshino, 1990).

La terapia pulpar tiene como principal objetivo mantener la integridad y salud del órgano dentario, así como también de sus tejidos de soporte. Es un tratamiento enfocado a mantener la vitalidad pulpar de un órgano dentario afectado por caries, una lesión traumática u otras causas. Sin embargo, un diente sin vitalidad pulpar también puede permanecer clínicamente funcional (Pinkham et al., 2005).

Existen diferentes técnicas y protocolos para el tratamiento pulpar en dientes primarios, dependiendo de la extensión del daño y del compromiso patológico (Pimenta et al., 2015).

La pulpotomía es la terapia alternativa principal indicada para el tratamiento de dientes primarios con inflamación coronaria reversible y pulpa vital, cuando no está involucrada la pulpa radicular o no hay síntomas de degeneración pulpar (Gonzalez-Lara et al., (2016). Este procedimiento se basa en el hecho de que después de la amputación quirúrgica de la pulpa coronal, el tejido de la pulpa

radicular permanece en un estado saludable, lo que respalda la existencia de un entorno natural para el desarrollo normal del diente sucesor (Pimenta et al., 2015).

La pulpectomía es un procedimiento del conducto radicular para el tejido pulpar que se encuentra infectado o necrótico debido a caries o trauma (Lo et al., 2007). Está indicada en dientes temporales con pulpitis irreversible o necrosis (Pinkham et al., 2005).

La conformación peculiar y topografía de los conductos radiculares de los dientes deciduos con curvaturas y una gran cantidad de conductos accesorios dificultan el acceso y la instrumentación del diente (Trejo-Quiroz et al., 2010) además del aspecto anatómico, el proceso de reabsorción de la raíz en dientes deciduos es irregular y no siempre se detecta radiográficamente lo que impide una completa manipulación de los conductos radiculares (Perona y Mungi, 2014). Estas condiciones también pueden impedir el desarrollo de los folículos dentales permanentes, así como el establecimiento de longitud de trabajo precisa (Molander y Dahlén, 2003; Barja-Fidalgo et al., 2011). Otro factor que complica la técnica endodóntica convencional química – mecánica del diente primario es la falta de cooperación de los niños (de Sousa et al., 2011).

Terapias alternativas de tratamiento pulpar que se han desarrollado, incluyen aquellas que recomiendan restringir el tratamiento a la cámara pulpar y métodos que promueven la desinfección o esterilización de los conductos radiculares con pulpas necróticas, como el uso de pastas que contienen antibióticos (Cappiello, 1964; Takushige et al., 2004; Pinky et al., 2011; Trairatvorakul y Detsomboonrat, 2012).

El término “Esterilización de Lesiones y Reparación Tisular”, LTSR (“Lesion Sterilization and Tissue Repair”), se usa para referirse a las terapias endodónticas que usan combinaciones de medicamentos para eliminar o minimizar la cantidad de microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares del diente con pulpas necróticas sin preparación químico - mecánica previa. Bajo la teoría de

que si hay una esterilización de la lesión podrá producirse la reparación de los tejidos (Takushige et al., 2004).

Las pastas obturadoras asumen un papel fundamental para que la reparación de los elementos dentarios se desenvuelva de acuerdo a los patrones biológicos normales (Young et al., 2007). Por tanto se torna fundamental la utilización de un medicamento que imposibilite la sobrevivencia de microorganismos (Iwaya et al., 2001).

Los requisitos óptimos de un material de obturación de conductos para dientes temporales han sido enlistados por varios autores (Bruno et al., 2007), tales como que no debe irritar los tejidos periapicales; debe tener un efecto antimicrobiano estable; el excedente de obturación, más allá del ápice se debe reabsorber fácilmente; debe ser colocado fácilmente dentro del conducto radicular, y poder ser removido fácilmente si es necesario; debe adherirse a las paredes del canal; no debe pigmentar el diente; debe ser radiopaco; debe ser inocuo al germen del diente permanente y no debe formar una masa sólida, la cual pueda interrumpir la erupción del diente permanente (Trejo-Quiroz et al., 2010).

Por los medicamentos disponibles actualmente para el tratamiento pulpar y la dificultad para realizar un diagnóstico correcto, algunos clínicos prefieren el uso de pastas antibióticas como alternativa dentro de la terapia endodóntica debido a su capacidad antimicrobiana, disminución de costos y aplicación rápida (Oliveira et al., 2013).

De acuerdo a estos requisitos se han utilizado diferentes materiales para la obturación de conductos radiculares, como las pastas a base de óxido de zinc y eugenol, solas o en combinación con formocresol o paramonoclorofenol alcanforado o clorhexidina; hidróxido de calcio, solo o en combinación con paramonoclorofenol alcanforado; pastas iodoformadas, por ejemplo, Vitapex® y pastas antibióticas como Guedes - Pinto, Maisto y CTZ; además de combinaciones de los materiales antes citados (Trejo-Quiroz et al., 2010).

Existen estudios que indican que la eficacia de la pasta antibiótica CTZ se debe a su acción antimicrobiana, principalmente debido a la presencia en su composición de dos antibióticos de amplio espectro: tetraciclina y cloranfenicol (Ferreira, 2017; Mariz y Cavalcanti, 2014; Perona y Mungi, 2014; Sergl et al., 2015).

La tetraciclina es un antimicrobiano que actúa contra una gran cantidad de bacterias aeróbicas, anaerobios y espiroquetas facultativos, así como contra los microorganismos Gram (+) y Gram (-). El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro, que puede ser bactericida en altas concentraciones, ofrece una excelente efectividad contra las bacterias Gram (-) y contra todos los anaerobios; Debido a su gran solubilidad permiten una amplia distribución por los tejidos y fluidos corporales, aumentando su poder de acción. El óxido de zinc-eugenol, proporciona propiedades analgésicas y una potente acción antibacteriana *contra Staphylococcus, Micrococci, Bacillus y Enterobacteria* (Reis et al., 2016).

La pasta Guedes – Pinto es un material obturador que presenta una óptima propiedad antiséptica, reabsorbible y reduce la acción antiinflamatoria después del término del tratamiento. Propuesta inicialmente para el tratamiento de necrosis pulpar, demostrando excelentes resultados en la terapia pulpar tanto en dientes vitales como en estado de gangrena pulpar. Esta pasta consiste en el uso de un antiséptico caracterizado por la lenta liberación de yodo y del ungüento Rifocort® compuesto por antibiótico de amplio espectro, rifamicina y un potente corticoide, prednisona, que garantiza el requisito antiinflamatorio y bactericida necesario para el éxito del tratamiento pulpar (Carolina et al., 2007).

La pasta Guedes – Pinto modificada es llamada así para los medios en donde no se encuentra disponible Rifocort®, siendo este reemplazado por: Rifamicina SV sódica, prednisona y óxido de zinc. Por lo tanto esta pasta está compuesta por: Rifamicina SV sódica, prednisona, óxido de zinc, yodoformo y paramonoclorofenol alcanforado (Mello et al., 2011).

La rifamicina sódica es un antibiótico del grupo de los macrólidos, ejerce una acción antibacteriana contra la mayoría de las bacterias Gram positivos y Gram negativos, formando un complejo estable con la RNA-polimeraza y ADN dependiente que ejerce una acción bactericida o bacteriostática sobre los gérmenes durante la fase de multiplicación (Mello et al., 2011).

Los glucocorticoides son hormonas naturales que previenen o inhiben la inflamación y las respuestas inmunológicas cuando se administran en dosis terapéuticas, atraviesan con facilidad la membrana celular y se unen con alta afinidad a receptores citoplasmáticos. La activación de estos receptores induce la transcripción y la síntesis de proteínas específicas. Algunas de las acciones mediadas por los glucocorticoides son la inhibición de la infiltración de leucocitos en los lugares inflamados, la interferencia con los mediadores de la inflamación, y la supresión de las respuestas humorales. El fármaco se une a las proteínas del plasma, en particular a la albúmina. La prednisona es cuatro veces más potente que la cortisona (Magalhares y Cury, 1991).

El yodoformo es un polvo de color amarillento que contiene un alto porcentaje de yodo (96,7%) y es poco soluble en agua. Su acción antiséptica está por la liberación de yodo, que provoca la precipitación de enzimas y otras proteínas (Daniel, 1999).

El paramonoclorofenol (PMCF) alcanforado es un antiséptico intraconducto. Su acción antibacteriana deriva de los dos radicales que lo componen, el fenol y el cloro. Su baja tensión superficial puede facilitar su difusión a través de los túbulos dentinarios y de los conductos secundarios (Soekanto et al., 1996).

IV. Hipótesis

La pasta CTZ tiene mayor efecto antimicrobiano sobre *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Micrococcus ssp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae* que la pasta Guedes-Pinto Modificada y la pasta Guedes-Pinto Modificada sin PMCF.

Hipótesis nula

La pasta CTZ no tiene mayor efecto antimicrobiano sobre *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Micrococcus ssp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Straphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae* que la pasta Guedes-Pinto Modificada y la pasta Guedes-Pinto Modificada sin PMCF.

V. Objetivos

V.1 Objetivo general

Determinar qué pasta tiene mayor efecto antimicrobiano sobre *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Micrococcus ssp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*, CTZ, Guedes-Pinto Modificada o Guedes-Pinto Modificada sin PMCF.

V.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto antimicrobiano de la pasta CTZ, Guedes-Pinto Modificada y Guedes-Pinto modificada sin PMCF sobre *Enterococcus faecalis*.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de la pasta CTZ, Guedes-Pinto Modificada y Guedes-Pinto modificada sin PMCF sobre *Streptococcus mutans*.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de la pasta CTZ, Guedes-Pinto Modificada y Guedes-Pinto modificada sin PMCF sobre *Micrococcus ssp.*
- Evaluar el efecto antimicrobiano de la CTZ, Guedes-Pinto Modificada y Guedes-Pinto modificada sin PMCF sobre *Staphylococcus aureus*.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de la CTZ, Guedes-Pinto Modificada y Guedes-Pinto modificada sin PMCF sobre *Pseudomonas fluorescens*.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de la CTZ, Guedes-Pinto Modificada y Guedes-Pinto modificada sin PMCF sobre *Pseudomonas aeruginosa*.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de la pasta CTZ, Guedes-Pinto Modificada y Guedes-Pinto modificada sin PMCF sobre *Klebsiella pneumoniae*
- Comparar los efectos antimicrobianos entre pastas y bacterias.

VI. Material y métodos

VI.1 Tipo de investigación

Experimental *In vitro*

VI.3 Muestra y tipo de muestra

70 placas de cultivo inoculadas por *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Micrococcus ssp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Teniendo 10 placas por cada bacteria. Cada placa con 4 discos de 6mm de diámetro, teniendo un total de 280 discos.

El número de muestra fue determinado tomando en cuenta las últimas investigaciones sobre el tema (Gonçalves et al., 2015).

VI.3.1 Criterios de selección

Placas Petri inoculadas con *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Micrococcus ssp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*.

Criterios de eliminación

Placas de cultivo que sufrieron contaminación.

Placas de cultivo en las que al sembrar las bacterias no se formó la unicapa.

Placas de cultivo en las que se cayó algún disco con las pastas.

Placas de cultivo en las que no fue posible realizar la medición del halo de inhibición ya sea porque este se unía a otro o porque el disco quedó muy pegado a la placa.

VI.3.2 Variables estudiadas

DEPENDIENTE

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Efecto antimicrobiano *El efecto antimicrobiano se medirá al realizar pruebas de difusión en agar y midiendo los halos de inhibición.	Halo de inhibición Zona formada alrededor de un pozo con pasta antibiótica que inhibe y detiene el crecimiento bacteriano	Medida del diámetro del halo de inhibición a las 24.	Cuantitativa	Continua	Milímetros

INDEPENDIENTE

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
CTZ	Pasta compuesta por: 500g de cloranfenicol, 500g de tetraciclina, 1gr óxido de zinc, 1 gota de eugenol.(150 µl)	Colocar los 4 elementos en una loseta de vidrio y mezclar hasta homogenizar.	Cuantitativa	Continua	Gramos Microlitros
Pasta Guedes-Pinto Modificada (GPM)	Pasta compuesta por: 0.25ml de rifamicina SV sódica, 5mg de prednisona, 0,1ml de paramonoclorofenol alcanforado, .30g de yodoformo y .30g de Óxido de Zinc.	Colocar los 5 elementos en una loseta de vidrio y mezclar hasta homogenizar.	Cuantitativa	Continua	Miligramos Mililitros
Pasta Guedes-Pinto Modificada sin Paramonoclorofenol alcanforado (GPM2)	Pasta compuesta por: 0.25ml de rifamicina SV sódica, 5mg de prednisona, .30g de yodoformo y .30g de Óxido de Zinc.	Colocar los 4 elementos en una loseta de vidrio y mezclar hasta homogenizar.	Cuantitativa	Continua	Miligramos Mililitros

VI.4 Técnicas e instrumentos

Para la generación de datos se incubaron las placas Petri con los 4 discos embebidos en las pastas, CTZ, Guedes-Pinto Modificada, Guedes-Pinto Modificada sin PMCF y el control negativo (Óxido de Zinc con agua inyectable) con los cultivos de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Micrococcus ssp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae* por 24hrs 37°C en agar Cerebro Corazón (*S. mutans* fue cultivado en agar TYS20B).

A las 24hrs se tomaron fotografías de las placas para así realizar las mediciones de los halos de inhibición por computadora con el programa ImageJ.

Las medidas fueron recolectadas en una base de datos de Excel. Posteriormente las variables fueron verificadas con la Prueba Kolmogorov-Smirnov al seguir las variables una distribución normal, los datos se sometieron a la prueba ANOVA y Tukey.

VI.5 Procedimientos

Preparación de los medios de cultivo líquidos

- Se colocaron 5.32g del polvo de infusión Cerebro Corazón en 144ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer (para 24 tubos).
- Se calentó con agitación frecuente y se llevó a ebullición hasta su disolución total.
- Se esterilizó en autoclave 15 minutos a 121°C.

Preparación de los medios de cultivo

- Se disolvieron 15.1g del polvo de infusión Cerebro Corazón y 6.45g de agar en 430ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer (para 10 cajas).
- Se calentó con agitación frecuente y se llevó a ebullición hasta su disolución total. (Figura 1).
- Se esterilizó en autoclave 15 minutos a 121°C.
- Se distribuyó en placas de cultivo estériles.

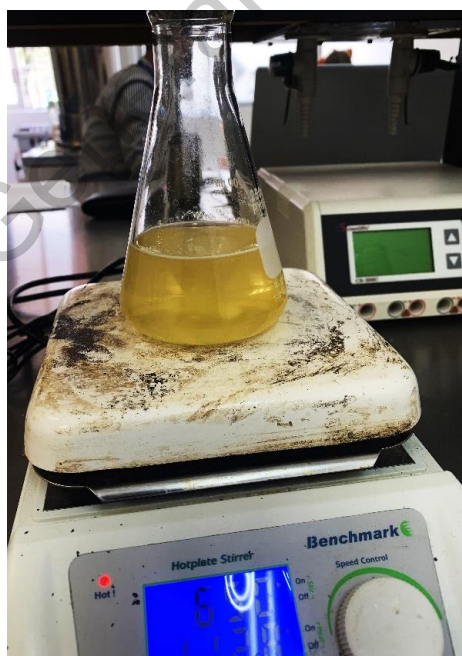


Figura1. Mezcla de infusión Cerebro – Corazón y agar con agitación frecuente.

Para *S. mutans*:

- Se pesaron 40g del medio base agar tripticasa de soya en báscula analítica.
- Se pesaron 10g de extracto de levadura y 15g de sacarosa en báscula analítica.
- Estos polvos se colocaron en 1lt de agua destilada en un matraz Erlenmeyer.
- Esta mezcla se dejó reposar por 15 minutos.
- Se calentó hasta su punto de ebullición con agitación hasta disolverse completamente.
- Se llevó el matraz a la autoclave y se esterilizó la solución a 121°C por 15 minutos.
- En un medio estéril se añadió 200U/ml (0.2U/ml) de agua destilada de bacitracina, se agitó hasta disolver.
- Se distribuyó la mezcla homogénea en placas Petri y se esperó a que estas gelificaran.

Aislamiento Clínico

- La muestra se obtuvo de dos pacientes que acudieron a la clínica de la Especialidad en Odontopediatría de la UAQ, con diagnóstico de necrosis pulpar, candidato a tratamiento de pulpectomía.
- Una vez que estaba realizado el acceso en el molar aislado con grapa y dique de hule se introdujeron 4 puntas de papel estéril con pinzas de curación estériles. (Figura 2.).
- Las puntas fueron colocadas en tubos tipo Eppendorf para ser transportadas al Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria de la Facultad de Medicina de la UAQ.
- En el laboratorio fueron colocadas en tubos de ensayo con Infusión Cerebro Corazón e incubadas por 24hrs a 37°C.

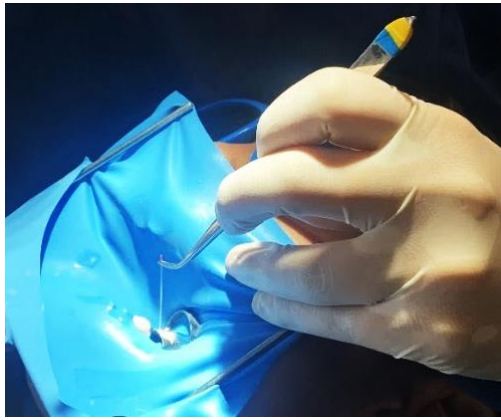


Figura 2. Toma de muestra con punta de papel estéril.

Siembra de la muestra clínica

- Se sumergió un hisopo estéril en el tubo de cultivo líquido donde se encontraban las puntas de papel y se presionó contra las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido.
- Posteriormente se realizó la siembra directa en dos placas Petri sobre la superficie del agar Cerebro Corazón por estría.
- Ambas placas se incubaron por 24 hrs a 37°C.

Aislamiento de cepas

- De cada una de las placas, se seleccionaron una cepa, identificándolas clínicamente por su forma, color y tamaño.
- Una vez seleccionadas se hizo un raspado de estas con un asa y se sembraron en dos diferentes placas de Petri y en tubo de ensayo con Infusión Cerebro Corazón para poder conservarlas.
- Se incubaron por 24hrs a 37°C.

Identificación de las cepas

- Se sellaron ambas placas con parafilm para ser transportadas y llevadas al laboratorio Químico Farmacobiólogo de la Facultad de Medicina de la UAQ para la identificación de las cepas.
- A los 3 días llegó el informe de las bacterias identificadas.
- Se marcaron los tubos de ensayo con los respectivos nombres de las bacterias.

Mezcla de los polvos de los elementos de las pastas antibióticas

- Se pesaron en báscula analítica los siguientes medicamentos:
 - **CTZ**
500mg de Cloranfenicol
500mg de Tetraciclina
1g de Óxido de Zinc
 - **Guedes Pinto Modificada**
.30g de yodoformo
5mg de Prednisona
.30g de Óxido de Zinc
- Cada mezcla fue almacenada en un frasco de vidrio ámbar.

Reactivación de las cepas

- Se colocaron 30µl del tubo de ensayo que contenía la cepa del laboratorio del Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria de la Facultad de Medicina de la UAQ en un tubo de ensayo con Infusión Cerebro Corazón.
- Se almacenó el tubo con la resiembra en la incubadora por 24hrs a 37°C.

Preparación de las Pastas

CTZ

- Se colocaron 200mg del frasco con la mezcla de sus respectivos medicamentos en una loseta de vidrio estéril.
- A la loseta de vidrio se le colocaron 75 µl de eugenol.

GPM

- Se colocaron 300mg del frasco con la mezcla con sus respectivos medicamentos en una loseta de vidrio estéril.
- Se colocaron en a loseta .13ml de Rifamicina SV sódica y .5ml de Paramonoclorofenol.

GPM2

- Se colocaron 300mg del frasco con la mezcla con sus respectivos medicamentos en una loseta de vidrio estéril.
- Se colocó en a loseta .13ml de Rifamicina SV sódica.

Control Negativo

- Se colocaron 250mg de Óxido de Zinc y 250µl de agua inyectable en una loseta de vidrio estéril. (Figura 4)

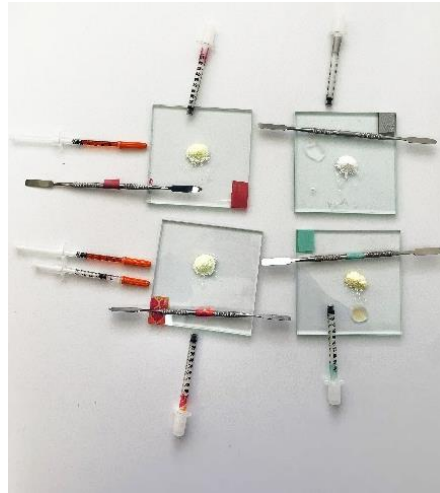


Figura 4. Medicamentos sobre losetas de vidrio estériles, listos para mezclar con sus respectivos elementos líquidos para formar las 3 pastas antibióticas estudiadas

Siembra de las cepas en las placas

- Una vez gelificado el agar cerebro corazón en las placas de Petri, con 2 mecheros de bunsen encendidos, se inició la siembra de la cepa a estudiar.
- Se sumergió un hisopo estéril en el tubo de cultivo líquido y se presionó contra las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido.
- Posteriormente se realizó la siembra directa sobre la superficie del agar por estría, girando el hisopo y la placa de Petri, formando una unicapa. (Figura 5).



Figura 5. Siembra con hisopo estéril de cepa de *E. faecalis* en placa Petri con agar cerebro corazón.

Preparación de los discos

- Previamente, con una perforadora, se obtuvieron los discos de 6mm de papel filtro y se esterilizaron en autoclave. (Figura 6a).
- Se mezclaron las 3 pastas y el control negativo sobre la loseta de vidrio estéril y con una espátula de cemento estéril.
- Se embebieron los discos en cada una de las pastas y se colocaron sobre las cajas de cultivo con pinzas de curación estériles. Quedando cada placa de cultivo con 4 discos: CTZ, GPM, GPM2 y control negativo. (Figura 5b.)
- Se cerraron las placas y se incubaron por 24 hrs a 37°C.



Figura 5a.



Figura 5b.

Figura 5a. Discos de papel filtro estéril.

Figura 5b. Discos embebidos en las pastas antibióticas y control negativo.

Fotografías y medición de los halos de inhibición.

- A las 24hr de incubación de las placas con sus respectivos discos, se tomaron fotografías de cada una de ellas (10).
- Se esterilizaron en autoclave por 15min a 121°C.
- Se realizaron las mediciones por computadora con el programa ImageJ tomando como referencia el disco de 6mm. (Figura 6).
- Se fueron recolectando los resultados, en mm, en hojas de Excel.

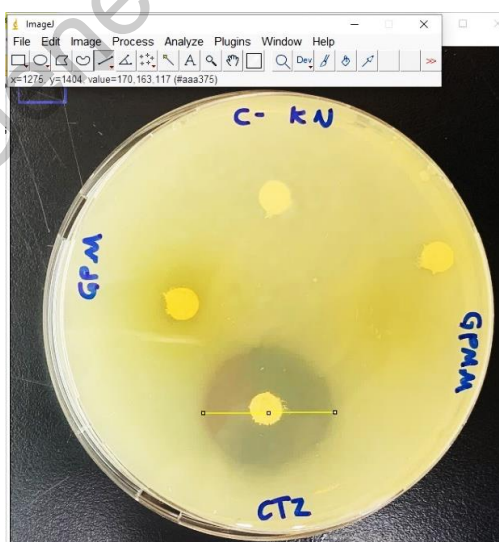


Figura 6. Medición del halo de inhibición de la pasta CTZ sobre *K. pneumoniae* con programa ImageJ.

VI.5.1 Análisis estadístico

Se analizaron los datos en desviación estándar y rango. Después de verificar con la Prueba Kolmogorov-Smirnov que las variables seguían una distribución normal, los datos se sometieron a la prueba ANOVA y Tukey, habiendo una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$), posteriormente se realizó la prueba Post Hoc de Tukey.

Dirección General de Bibliotecas UHQ

VII. Resultados

A continuación se presentan las tablas de recolección de datos (en milímetros) de cada bacteria estudiada. (Tabla 1 – Tabla 7)

E. faecalis

Placa	CTZ	GPM	GPM2	Control -
1	19.44	10.96	10.72	0
2	18.52	11.15	11.62	0
3	17.78	10.06	10.52	0
4	15.06	10.02	11.93	0
5	15.34	9.87	10.92	0
6	19.34	10.52	---	0
7	16.32	10.04	11.51	0
8	21.32	11.86	12.48	0
9	21.05	10.87	11.44	0
10	19.28	---	11.04	0
Promedio	18.34	10.59	11.35	0
Desv Est.	2.19	0.66	0.62	0

Tabla 1. Recolección de datos de *Enterococcus faecalis*

S. mutans

Placa	CTZ	GPM	GPM2	Control -
1	28.74	21.68	19.65	8.93
2	24.79	22.66	22.6	10.09
3	28.01	19.82	20.38	9.96
4	25.08	21.12	19.03	6.96
5	25.62	---	19.41	9.26
6	26.41	21.3	22.04	8.17
7	23.84	20.37	20.5	---
8	28.78	23.62	24.18	8.16
9	26.53	21.57	21.43	8.22
10	25.22	19.36	23.66	8.61
Promedio	26.30	21.27	21.28	8.70
Desv.Est.	1.71	1.33	1.79	0.98

Tabla 2. Recolección de datos de *Streptococcus mutans*.**Micrococcus ssp.**

Placa	CTZ	GPM	GPM2	Control -
1	21.3	11.31	11.47	2.6
2	21.37	8.79	8.9	3.37
3	22.37	9.8	11.64	2.46
4	21.93	8.55	7.45	3.2
5	---	10.88	10.81	1.31
6	---	7.84	7.14	2.04
7	22.46	8.86	9.81	2.78
8	21	10.07	12.24	1.36
9	21.9	10.38	12.45	2.28
10	---	10.37	9.43	1.79
Promedio	21.76	9.68	10.13	2.31
Desv.Est.	0.55	1.12	1.90	0.70

Tabla 3. Recolección de datos de *Micrococcus ssp.*

S. aureus

Placa	CTZ	GPM	GPMM	Control -
1	35.38	32.16	27.84	2.54
2	34.34	28.64	---	2.04
3	36.6	32.32	30.26	---
4	35.04	30.14	28.14	2.62
5	---	29.16	28.82	1.35
6	36.94	27.68	31.72	1.98
7	35.24	26.94	28.52	2.98
8	35.68	30.98	26.24	1.74
9	---	26.84	29.62	1.2
10	---	29.4	27.78	1.48
Promedio	35.60	29.42	28.77	1.99
Desv.Est.	0.90	1.98	1.59	0.61

Tabla 4. Recolección de datos de *Staphylococcus aureus*.**P. fluorescens**

Placa	CTZ	GPM	GPMM	Control -
1	19.75	7.99	8.02	0
2	17.41	7.7	10.61	0
3	19.12	9.31	6.04	0
4	17.88	7	7.73	0
5	17.98	8.82	8.67	0
Promedio	18.428	8.164	8.214	0
Desv.Est.	0.97	0.91	1.65	0

Tabla 5. Recolección de datos de *Pseudomonas fluorescens*.

P. aeruginosa

Placa	CTZ	GPM	GPM2	Control
				-
1	18.98	7.11	5.92	0
2	20.11	7.05	4.8	0
3	19.8	7.42	3.79	0
4	---	5.26	4.3	0
5	20.99	5.38	7.1	0
6	20.6	6.27	6.54	0
7	20.46	5.24	8.1	0
Promedio	20.15	6.24	5.79	0
Desv.Est.	0.70	0.95	1.57	0

Tabla 6. Recolección de datos de Pseudomonas aeruginosa.

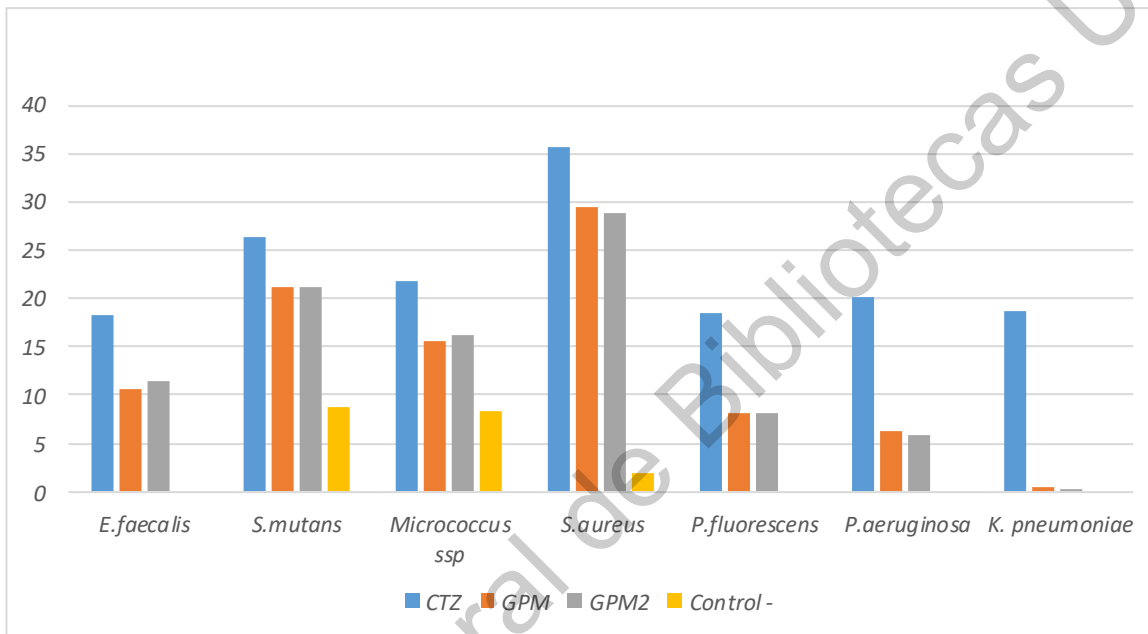
K. pneumoniae

Placa	CTZ	GPM	GPMM	Control -
1	16.88	0	0	0
2	20.54	0	0	0
3	22.78	1.96	1.69	0
4	18.96	0	0	0
5	17.59	1.76	0	0
6	18.57	0	0	0
7	20.12	0	1.85	0
8	16.85	0	0	0
9	17.9	0	0	0
10	17.67	1.62	0	0
Promedio	18.78	0.53	0.35	0
Desv.Est.	1.87	0.86	0.74	0

Tabla 7. Recolección de datos de Klebsiella pneumoniae.

La Gráfica 1 muestra una comparación de los promedios de los halos de inhibición de cada bacteria y pasta. Se puede observar que CTZ fue la pasta antibiótica con mayor efecto antimicrobiano.

Gráfica 1



Gráfica 1. Comparación de los promedios de los halos de inhibición de las pastas antibióticas contra las bacterias analizadas.

En la Tabla 8 se muestran las medidas (en mm) del halo de inhibición de las tres pastas antibióticas en contra de las siete bacterias. Los diámetros de los halos de inhibición de la pasta CTZ en todos los casos son mayores que los diámetros de las pastas GPM y GPM2. Al aplicar la prueba de ANOVA y Tukey se determinó una diferencia significativa (<0.0001) entre los halos de inhibición de las pastas antibióticas, así como entre las bacterias estudiadas.

Tabla 8. Comparación (en mm) de los halos de inhibición de las pastas antibióticas contra las 7 diferentes bacterias analizadas.

	CTZ	GPM	GPM2	Control -	Valor de P
	X±DE (rango)				
<i>E. faecalis</i>	(n=10) 18.34±2.19 (15.06-21.32)	(n=9) 10.59±0.66 (9.87-11.86)	(n=9) 11.35±0.62 (10.52-12.48)	(n=10) 0	<0.0001
<i>S. mutans</i>	(n=10) 26.30±1.71 (23.84-28.74)	(n=9) 21.27±1.33 (19.36-23.62)	(n=10) 21.28±1.79 (19.03-24.18)	(n=9) 8.70±0.98 (6.96-10.09)	<0.0001
<i>Micrococcus ssp.</i>	(n=7) 21.76±0.55 (21-22.46)	(n=10) 15.68±1.12 (7.84-11.31)	(n=10) 16.13±1.90 (7.14-12.45)	(n=10) 8.31±0.70 (1.31-3.37)	<0.0001
<i>S. aureus</i>	(n=7) 35.60±.90 (36.94-34.34)	(n=10) 29.42±1.98 (26.94-32.32)	(n=9) 28.77±1.59 (26.24-31.72)	(n=9) 1.99±0.61 (1.2-2.98)	<0.0001
<i>P. fluorescens</i>	(n=5) 18.42±0.97 (17.41-19.75)	(n=5) 8.16±0.91 (7-9.31)	(n=5) 8.21±1.65 (6.04-10.61)	(n=5) 0	<0.0001
<i>P. aeruginosa</i>	(n=6) 20.15±0.70 (18.98-20.99)	(n=7) 6.24±0.95 (5.24-7.42)	(n=7) 5.79±1.57 (3.79-6.54)	(n=7) 0	<0.0001
<i>K. pneumoniae</i>	(n=10) 18.78±1.87 (16.85-22.78)	(n=10) 0.53±0.86 (0-1.96)	(n=10) 0.35±0.74 (0-1.85)	(n=10) 0	<0.0001
Valor de P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	-----	

CTZ. Pasta antibiótica compuesta por tetraciclina, cloranfenicol, óxido de zinc y eugenol. **GPM.** Guedes Pinto Modificada. Pasta antibiótica compuesta por rifamicina, prednisona, óxido de zinc, yodoformo y paramonoclorofenol alcanforado. **GPM2.** Pasta antibiótica Guedes Pinto Modificada sin paramonoclorofenol alcanforado. **Control.** Óxido de Zinc y solución salina.

En la Tabla 9 se realizó una comparación entre los halos de inhibición de cada pasta antibiótica contra las diferentes bacterias. Se puede observar que existe diferencia estadísticamente significativa entre CTZ vs GPM en todos los halos contra todas las bacterias analizadas, así como CTZ vs GPM2. Por el contrario no existe diferencia estadísticamente significativa entre GPM vs GPM2 en ningún caso. Es decir, mientras que la tabla 1 muestra diferencia entre los milímetros del halo de inhibición de GPM y GPM2, la tabla 2 nos indica que esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Tabla 9. Comparación de las pastas antibióticas.

	Estadísticamente significativo
CTZ <i>E. faecalis</i> vs. GPM <i>E. faecalis</i>	Si
CTZ <i>E. faecalis</i> vs. GPM2 <i>E. faecalis</i>	Si
GPM <i>E. faecalis</i> vs. GPM2 <i>E. faecalis</i>	No
CTZ <i>S. mutans</i> vs. GPM <i>S. mutans</i>	Si
CTZ <i>S. mutans</i> vs. GPM2 <i>S. mutans</i>	Si
GPM <i>S. mutans</i> vs. GPM2 <i>S. mutans</i>	No
CTZ <i>Micrococcus ssp.</i> vs. GPM <i>Micrococcus ssp.</i>	Si
CTZ <i>Micrococcus ssp.</i> vs. GPM2 <i>Micrococcus ssp.</i>	Si
GPM <i>Micrococcus ssp.</i> vs. GPM2 <i>Micrococcus ssp.</i>	No
CTZ <i>S. aureus</i> vs. GPM <i>S. aureus</i>	Si
CTZ <i>S. aureus</i> vs. GPM2 <i>S. aureus</i>	Si
GPM <i>S. aureus</i> vs. GPM2 <i>S. aureus</i>	No
CTZ <i>P. fluorescens</i> vs. GPM <i>P. fluorescens</i>	Si
CTZ <i>P. fluorescens</i> vs. GPM2 <i>P. fluorescens</i>	Si
GPM <i>P. fluorescens</i> vs. GPM2 <i>P. fluorescens</i>	No
CTZ <i>P.aeruginosa</i> vs. GPM <i>P.aeruginosa</i>	Si
CTZ <i>P. aeruginosa</i> vs. GPM2 <i>P.aeruginosa</i>	Si
GPM <i>P.aeruginosa</i> vs. GPM2 <i>P.aeruginosa</i>	No
CTZ <i>K. pneumoniae</i> vs. GPM <i>K. pneumoniae</i>	Si
CTZ <i>K. pneumoniae</i> vs. GPM2 <i>K. pneumoniae</i>	Si
GPM <i>K. pneumoniae</i> vs. GPM2 <i>K. pneumoniae</i>	No

Se realizó la prueba Post Hoc múltiple de Tukey para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición.

VIII. Discusión

La LTSR es una técnica que se restringe a la eliminación de la cámara pulpar y la colocación de combinaciones de medicamentos, principalmente antibióticos, para eliminar o minimizar la cantidad de microorganismos presentes en los conductos radiculares en necrosis pulpares. Unas de las principales mezclas para dicha técnica son las pastas CTZ y Guedes Pinto. El paramonocloronefol alcanforado, uno de los componentes de la pasta Guedes Pinto Modificada, no se comercializa en México por lo que se realizó una tercera pasta, GMP2. El objetivo del este estudio fue determinar cuál de estas pastas tiene mayor actividad antimicrobiana sobre diferentes microorganismos presentes en necrosis pulpares.

Cancio, et al. (2017) resaltan que, si bien, *Enterococcus faecalis* es un patógeno normalmente encontrado en casos de fracaso endodóntico en dientes permanentes. Ellos lo encontraron en el 20% de las muestras asiladas de dientes primarios con infección dental primaria. Por lo que en este estudio se decidió realizar las pruebas con esta bacteria, obtenida del Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria de la Facultad de Medicina de la UAQ. Los resultados para esta bacteria fueron los siguientes vs: CTZ 18.42 ± 0.97 mm, GPM 8.16 ± 0.91 mm y GMP2 8.21 ± 1.65 . Amorim et al. (2006) obtienen los siguientes resultados en el diámetro de los halos de inhibición: Pasta Guedes Pinto 8mm, coincidiendo con nuestros resultados. No así con CTZ para la cual obtuvieron un resultado de 9mm. Gonçalves et al. (2015) contra CTZ, *E. faecalis* obtuvieron un resultado de 35mm y de 33mm con Guedes Pinto, siendo sus valores más altos que los obtenidos en esta investigación. Esta diferencia puede deberse a que existen diferentes tipos de cepas y es probable que la cepa de *E. faecalis* utilizada en este estudio, haya sido expuesta previamente a antibióticos.

Para extender la investigación se obtuvo *Klebsiella pneumoniae* de un aislado hospitalario, cepa reportada como altamente antimicrobiana, lo que podría explicar la diferencia de resultados siendo estos menores a los del estudio realizado por Gonçalves et al. (2015), en la que aislaron la bacteria antes

mencionada de pacientes con necrosis pulpar. Nuestros resultados para *K. pneumoniae* vs CTZ fueron 18.78 ± 1.87 mm mientras que Gonçalves et al., reportan un diámetro de 42.5mm y contra la Pasta Guedes Pinto de 23.5 y nosotros nuestros tenemos un diámetro de 0.53 ± 0.86 mm contra GPM y 0.35 ± 0.74 mm contra GPM2.

En el presente estudio se logró aislar *Pseudomona aeruginosa* y *Pseudomona fluorescens*, ambas aerobias facultativas. *P. aeruginosa* presentó una media de diámetro del halo de inhibición contra CTZ de 20.15 ± 0.70 mm, 6.24 ± 0.95 mm contra la pasta GPM y 5.79 ± 1.57 mm vs GPM2. Mientras que Amorim et al., en 2006 reportan un halo de inhibición de 39mm contra CTZ y 26 mm contra la Pasta Guedes Pinto Original. Los resultados en este estudio de *P. fluorescens* fueron los siguientes vs CTZ 18.42 ± 0.97 mm, GPM 8.16 ± 0.91 mm y GPM2 28.21 ± 1.65 mm, no hay diferencia estadísticamente significativa entre *P. aeruginosa* y *P. fluorescens*.

También se logró aislar *Micrococcus ssp*, es un género de bacterias para el que no hay estudios de este tipo, los resultados fueron los siguientes contra CTZ 21.76 ± 0.55 mm, GPM 15.68 ± 1.12 mm, GPM2 16.13 ± 1.90 mm

Otra de las bacterias aisladas durante este estudio, fue *Staphylococcus aureus*, aislada en estudios similares como Gonçalves et al. (2015), en el que los milímetros del halo de inhibición contra CTZ fueron de 35mm resultado muy similar al arrojado en este estudio, de 35.60 ± 0.90 mm. A diferencia de los resultados para la Pasta Guedes Pinto fue de 39.5mm, nuestro estudio arrojó como resultado para las pastas GPM y GPM2 diámetros de 29.42 ± 1.98 mm y 28.77 ± 1.59 mm respectivamente. Amorim et al. (2006), obtienen como resultado para CTZ 39mm y para la Pasta Guedes Pinto 12mm.

Silva et al. (2006) reportan que en el 30% de los conductos analizados se encontró *Streptococcus mutans* por lo que en este estudio se decidió realizar las pruebas en esta bacteria obtenida del laboratorio de investigación. Obteniendo los siguientes resultados, contra CTZ 26.30 ± 1.71 mm, GPM 21.27 ± 1.33 mm y GPM2 21.28 ± 1.79 mm. Al igual que *S. aureus* y *Micrococcus ssp*. se presentó inhibición

incluso con el control negativo, demostrando que son bacterias sensibles a cualquier cambio en el medio. Si bien fueron inhibiciones pequeñas, coincide en que estas tres bacterias fueron las que presentaron mayores halos de inhibición, esto podría ser porque son bacterias que no han sido previamente expuestas a antibióticos.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

IX. Conclusiones

Después de analizar los resultados obtenidos, llegamos a la conclusión de que la pasta CTZ tiene mayor actividad antimicrobiana que las pastas GPM y GPM2, sin embargo esta actividad antimicrobiana no es constante ante todas las bacterias, pues hay una gran variación entre los diámetros de las diferentes bacterias analizadas. Por lo que el uso de esta técnica con CTZ, debe ser usada considerando las especificaciones clínicas de cada paciente y evitar el uso indiscriminado de este.

No hay diferencia estadísticamente significativa entre las pastas GPM y GPM2, por lo que se puede concluir en que no hay diferencia en agregar, o no, el Paramonoclorofenol alcanforado a la mezcla para lograr mayor actividad antimicrobiana.

Se necesitan más estudios, sobre todo clínicos sobre las pastas analizadas, en diferentes bacterias y cepas.

IX. Propuestas

Se han realizado varios estudios que demuestran que la técnica LTSR funciona en el paciente pediátrico, sin embargo no se ha considerado el problema de resistencia bacteriana por el uso indiscriminado de antibióticos, por lo que es necesario realizar más estudios sobre diferentes bacterias y cepas considerando la variada microflora de la cavidad oral y por ende de los conductos radiculares con algún proceso infeccioso. Realizar estudios clínicos, sobre todo a largo plazo para poder saber que tan efectiva es esta técnica y poder definir en qué casos estaría recomendada utilizarla.

X. Bibliografía

- Abuquerque I., Marinho J., and Vasconcelos P. 2008. "Utilizacao de pasta CTZ em dente decíduo com necrose pulpar-relato de caso." *Odont Clin Cientific Recife*. 7: 63–55.
- Amorim L., Toledo O.A., Estrela C.R., and Decurcio A. 2006. "Antimicrobial analysis of different root canal filling pastes used in pediatric dentistry by two experimental methods". *Brazilian Dental Journal*. 17: 317–22.
- Ando N., and Hoshino E. 1990. "Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine". *International Endodontic Journal*. 23 (1): 20–27.
- Barja-Fidalgo F., Moutinho-Ribeiro M., Amorim Oliveira M.A. and de Oliveira B.H. 2011. "A Systematic Review of Root Canal Filling Materials for Deciduous Teeth: Is There an Alternative for Zinc Oxide-Eugenol?"
- Cancio V., Carvalho Ferreira D., Sampalo Calvalcante F., Soares Rosado A., Martins Teixeira L., Braga Oliveira Q., Barcelos R., Gleiser R., Fragoso Santos H., Netto dos Santos KE., and Guimaraes Primo L. 2017. "Can the Enterococcus faecalis identified in the root canals of primary teeth be a cause of failure of endodontic treatment?. *Acta Odontologica scandinavica*. 75:6, 423-428.
- Carolina A., Mello-Moura V., Ferraz Cerqueira D., and Marcílio Santos E. 2007. "Pasta Guedes-Pinto – Revisão de literatura: 26 anos de estudos sobre citotoxicidade, citotóxicos, histopatológicos, microbiológicos e clínicos". *RPG Rev Pós Grad*. 14 (3): 260–66.

Cappiello J. 1964. "Tratamiento pulpar en dientes primarios". *Revista de la Asociación Odontológica Argentina*. 52: 139–45.

Cogulu, Dilsah, Atac U., Oncag O., and Eronat E. 2008. "PCR-based identification of selected pathogens associated with endodontic infections in deciduous and permanent teeth". *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. 106 (3): 443–49.

Daher A., Vianna K.A., Rodrigues Leles C. and Rezende Costa L. 2015. "Ineffectiveness of Antibiotic-Based Pulpotomy for Primary Molars: a Survival Analysis". *Brazilian Research in Pediatric Dentistry and Integrated Clinic*. 15(1):205-2015.

Daniel R.L.D. 1999. "mprego do iodorórmio em endodontia, revisao de literatura. Revisao do literatura." *RPG Rev Pós Grad* 6. (2): 175–79.

Denari W. 1996. "É possível tratar dentes decíduos com fístula sem instrumentação dos condutos?." *APCD*. 50 (2): 8–11.

Fereira J.A.L. 2017. "Clinical and Radiographic Evaluation of CTZ (Chloramphenicol-Tetracycline-Zinc Eugenol Oxide) Antibiotic Paste in Pulp Treatment of Primary Molars". *Journal of Dental Health, Oral Disorders & Therapy*. 8 (1): 1–5.

Glaucenira de Barros B., Nunes Alves A.P., Aparecida Menezes V., Germano Maia M.C., Bruno J.A., and de Barros Viana G.S. 2007. "Biocompatibility evaluation of an antibiotic paste after pulpotomy in dogs". *Brazilian Journal of Oral Sciences*. 6 (22): 1397–1401.

Gomez A. and Nelson K.E. 2017. "The Oral Microbiome of Children: Development, Disease and Implications Beyond Oral Health". *Microb Ecol*. 73(2):492-203.

Gonçalves S., Sandro S., d Silveira R., Miasato J.M., Oliveira L.M. and d Neves A. 2015. "Antimicrobial Activity of Endodontic Pastes of Microorganisms Present in Root Canals of Necrotic Primary Molars". *International Journal of Clinical Dentistry*. 8 (3): 213–23.

Gonzalez-Lara A., Ruiz-Rodriguez M.S., Pierdant-Perez M., Garrocho-Rangel J.A., and Pozos-Guillen A.J. 2016. "Zinc Oxide–Eugenol Pulpotomy in Primary Teeth: A 24-Month Follow-up". *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 40. (2): 107–12.

Guerrero-Reynoso V.M., Gracia Godinez-Morales A., Melchor-Soto C.G., Rodriguez-Gurza M.E., and Elisa Luengas-Quitero. 2009. "Epidemiología de caries dental y factores de riesgo asociados a la dentición primaria en preescolares". *Revista ADM*.

Hoshino E., Ando N., Sato M. and Kota K. 1992. "Bacterial invasion of non-exposed dental pulp". *International Endodontic Journal*. 25,2-5.

Iwaya S., Motohide I., and Kubota M. 2001. "Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. Dent vascularization potential of a young permanent tooth pulp into a". *Dental Traumatology Traumatol C Munksgaard Welfare Pension Hospital*. 17 (17): 185–87.

Jaya A.R., Praveen P., Anantharaj A., Venkataraghavan K., and Rani P.S. 2012. "In vivo evaluation of lesion sterilization and tissue repair in primary teeth pulp therapy using two antibiotic drug combinations." *Journal of clinical pediatric dentistry*. 37 (2):189–91.

Lo, Edward C.M., Christopher JH., Deyu Hu., and Helderman W.V.P. 2007. "Six-year follow up of atraumatic restorative treatment restorations placed in

Chinese school children". *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. 35 (5): 387–92.

Magalhães M., Cury G., and Ruy G. 1991. "Influencia de pasta composta por Ricofort, iodoformo e paraclorofenol canforado na reparacao dento-alveolar. Estudo morfológico em ratos." *Rev. Gac. Odontol.* 3 (1): 7–15.

Marquez Junco MM. 2010. "Tratamiento pulpar en una niña con pasta Guedes Pinto Modificada: Reporte de un caso". UNMSM.

Mariz P., Cavalcanti R., and Alves S. 2014. "Clinical and radiographic monitoring of primary teeth submitted to pulp therapy with CTZ paste". *Braz Res Ped Dent Int Clin.* 14 (3): 56–68.

Mello Moura A. et al. 2011. "Variability in the proportion of components of iodoform based Guedes - Pinto paste mixed by dental students and pediatric dentists ." *Indian Journal of Dental Research.* 22 (6): 781–85.

Messer L.B. 2000. "Assessing caries risk in children". *Australian Dental Journal.* 45:(1):10-16 1: 10–16.

Molander, Anders, and Gunnar Dahlén. 2003. "Evaluation of the antibacterial potential of tetracycline or erythromycin mixed with calcium hydroxide as intracanal dressing against *Enterococcus faecalis* in vivo". *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics.* 96 (6): 744–50.

Oliveira T. M., Moretti A. B. S., Sakai V. T., Lourenço N., Santos C. F., Machado M. A. A. M., and Abdo R. C. C..2013. "Clinical, radiographic and histologic analysis of the effects of pulp capping materials used in pulpotomies of human primary teeth". *European Archives of Paediatric Dentistry.* 14 (2): 65–71.

Perona G., and Mungi S. 2014. "Tratamiento Endodóntico no Instrumentado en dientes deciduos Terapia Endodôntica sem Instrumentação na dentição decidua Non Instrumental Endodontic Treatment in Primary Teeth Abstract". *Revista de odontopediatria latinoamericana*. 4 (1): 53–64.

Pimenta H.C., Borges A.H., Bandeca M.C., Neves A.T., Fontes R.G., da Silva P.V., and Aranha A.M. 2015. "Antimicrobial activity of filling materials used in primary teeth pulpotomy". *Journal of international oral health : JIOH*.7 (4): 54–57.

Pinkham J.R., Casamassimo P.S., Fields H.W. jr., McTigue D.J., and Nowak A. 2005. "Pulp therapy for the primary dentition." En *Pediatric Dentistry: Infancy Through Adolescence*. 375–93.

Pinky C., Shashibhushan K.K., and Subbareddy V.V. 2011. "Endodontic treatment of necrosed primary teeth using two diferent combinations of antibacterial drugs: an in vivo". *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 29: 121–27.

Piva F., Italo Medeiros F. Jr., Feldens C.A., and Rodrigues de Araújo Estrela C. 2009. "Ação antimicrobiana de materiais empregados na obturação dos canais de dentes deciduos por meio da difusão em ágar: Estudo in vitro". *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clinica Integrada*. 9 (1): 13–17.

Reis B.S., Barbosa C.N.N., Solares L.C., Brum S.C., Barbosa O.L.C.B., et al. 2016. "In vitro analysis of antimicrobial activity of CTZ binder used as material plug in deciduous teeth". *R Pró Uni*. 7 (3): 39–42.

Sato I., Ando-Kurihara N., Kota K., Iwaku M., and E. Hoshino. 1996. "Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ". *International Endodontic Journal*. 29 (2): 118–24.

Siegl, Coli R.M., Lenzi T.L., Politano G.T., Benedetto M., Imparato J.C.P. and Pinheiro S.L. 2015. "Two endodontics techniques analysis in primary molars with fistula". *RGO - Revista Gaúcha de Odontologia*. 63 (2): 187–94.

Silva L.A.B., Nelson-Filho P., Faria G., Souza-Gugelmin M.C.M and Ito I.Y. 2006. "Bacterial Profile in primary teeth with Necrotic Pulp and Periapical Lesions". *Braz Dent J*. 17(2): 144-148.

Siqueira J.F. jr., Rocas I.N., Souto R., de Uzeda M., and Colombo A.P. 2000. "Checkboard DNA -DNA hybridization analysis of endodontic infections." *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 89: 744–48.

Siqueira J.F. 2002. "Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives". *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 94 (3): 281–93.

Soekanto A., Kasugai S., Matakai S., Ohya K., and Ogura H. 1996. "Toxicity of Camphorated Phenol and Camphorated Parachlorophenol in Dental Pulp Cell Culture". *Journal of Endodontics*. 22 (6): 0–2.

Sousa D.L., de Sousa R.B, Pinto D.N., Neto J.J., de Carvalho C.B., and de Almeida P.C. 2011. "Antibacterial effects of chemomechanical instrumentation and calcium hydroxide in primary teeth with pulp necrosis." *Pediatric dentistry*. 33 (307): 11.

Takushige T., Cruz E.V., Asgor Moral A., and Hoshino H. 2004. "Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs". *Int Endod J.* 37 (2): 132–38.

Trairatvorakul, Chutima and Detsomboonrat P. 2012. "Success rates of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole, and minocycline antibiotics used in the non-instrumentation endodontic treatment of mandibular primary molars with carious pulpal involvement". *International Journal of Paediatric Dentistry.* 22 (3): 217–27.

Trejo-Quiroz P, Claudia D.E. Le C.D.R., and Carmona-Ruiz D. 2010. "Técnica de endodoncia no instrumentada mediante el uso de la pasta CTZ". *Rev. Estomat.* 18 (2): 27–32.

Walther L. 1965. "Endodontic treatment for primary molars." *Rev Gaucha Odontol.* 13 (1): 8–11.

Young G. R., Parashos P., and Messer H.H. 2007. "The principles of techniques for cleaning root canals". *Australian Dental Journal.* 52 (1 SUPPL.).

XI. Anexos

X1.1 Hoja de recolección de datos

Bacteria:				
Placa	CTZ	GPM	GPM2	Control -
1				
3				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
Promedio				
Desv. Est.				

XI.2 Instrumentos

1. Placas Petri (Senna®, 60 x 15, producto previamente estéril)
2. Infusión cerebro corazón en polvo (bhi®, Fco 500 gr)
3. Mechero de bunsen
4. Agar
5. Matraz de Erlenmeyer
6. Hisopos estériles
7. Yodoformo
8. Agua inyectable
9. Agua destilada
10. Mortero de vidrio
11. Cuchara dosificadora
12. Espátula
13. Loseta de vidrio
14. Guantes
15. Cubre bocas.
16. Alcohol
17. Puntas de papel estériles
18. Ester clave.
19. Lentes de protección
20. Plumón indeleble
21. Cronometro
22. Jeringas hipodérmicas de 1ml
23. Pipeta
24. Papel filtro
25. Balanza analítica
26. Incubadora
27. Óxido de Zinc y Eugenol (IRM, Densply)
28. Prednisona (Meticoren® tabletas 5mg)
29. Rifamicina SV Sódica (Rifamicina® 1gr/100ml)
30. Paramonoclorofenol alcanforado
31. Autoclave
32. Cepas inoculadas de *Enterococcus faecalis*.
33. Cepas inoculadas de *Streptococcus mutans*
34. Cepas inoculadas de *Micrococcus ssp.*
35. Cepas inoculadas de *Pseudomona aeruginosa*
36. Cepas inoculadas de *Pseudomona fluorescens*
37. Cepas inoculadas de *Staphylococcus aureus*
38. Cepas inoculadas de *Klebsiella pneumoniae*