



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE
COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL
METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIÁNDOLOS
CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO
CLAVULÁNICO, COMO REEMPLAZOS A LA MINOCICLINA,
EN BACTERIAS ANAEROBIAS PREVALENTES EN
NECROSIS PULPAR**

PRESENTADO POR: *LUIS ALFREDO GÓMEZ RAMOS*

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

LIMA – PERÚ

2016

DEDICATORIA

Primeramente a Dios por iluminarme y cuidarme cada día.

A mi padre Alfredo Fidel Gómez Campos quien me brinda su apoyo constantemente en los momentos difíciles para salir adelante, y seguir haciendo las cosas como se debe de hacer.

A mi madre Ana María Ramos Vera, cada aliento de su vida me la da para luchar contra la adversidad, apoyándome incondicionalmente y sé que se lo devolveré, es mi deber.

A mis hermanas Madelein y Mariana que son mi fortaleza y fuente de mi inspiración.

A mi cuñado Jonathan quien me orientó en el desarrollo del trabajo.

Y a mi sobrina Dafne Massiel, quien me plasma su sonrisa cada día.

AGRADECIMIENTO

Un grato saludo al (la):

Dr. Luis Felipe Cahua Chávez, me siento contento de que haya sido mi profesor. Considerado uno de los pilares en la formación profesional en nuestra casa de estudio.

Dra. Ana Cecilia Cupé Araujo, por ser una gran y bella persona, me siento contento de que haya sido mi profesora ya que su conocimiento lo plasmo constantemente en la práctica.

Dra. Michelle Lucy Del Catillo Pinto, ya que complementó mi formación para hacer las cosas mejor cada día.

Dr. Juan Alfredo Santibáñez Ríos y al Dr. Luis Antonio García Rodríguez por sus buenas enseñanzas en mi formación profesional.

Dr. Hiroshi Concha Cussihualpa, buen Doctor, quien quedé asombrado por lo impecable y ordenado en realizar su trabajo y de lo que verdaderamente es la odontología, ciencia.

Dr. Máximo Ramírez Julca, por su tiempo, comprensión y amabilidad en la elaboración de este proyecto de investigación.

RECONOCIMIENTO

A mi Alma Mater, Universidad Alas Peruanas representada en su Escuela Profesional de Estomatología

A mi asesor, C.D Eloy Gamboa Alvarado por su tiempo en la elaboración de esta investigación.

A mis amigos(as) de mi querido colegio “Manuel Polo Jiménez” por no estar juntos debido al tiempo que le daba a mi investigación.

A mis amigos de mi Universidad, por estar juntos en los malos momentos.

EPIGRAFE

**PARA ENFRENTAR LOS PROBLEMAS
QUE SE PRESENTAN EN LA VIDA
DEBO DE EXIGIRME Y SER COMPETITIVO**

RESUMEN

Sobre el uso de combinación de antibióticos se ha descrito poco en la literatura médica, especialmente la Estomatología debido a ello nace el presente trabajo de investigación *“Evaluación del efecto antimicrobiano de combinaciones de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico, como reemplazos a la minociclina, en bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar”* donde el objetivo es evaluar la efectividad antimicrobiana de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico como reemplazos a la minociclina en bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar. Se utilizaron dos cepas ATCC® (*Prevotella melaninogenica* y *Peptostreptococcus anaerobius*) para probar la susceptibilidad a la combinación de los principios activos mediante el Método de difusión con disco según Kirby – Bauer en medio anaerobio. Se realizó la lectura de los resultados a las 24 horas. La mayor efectividad antimicrobiana fue producida por la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico, seguida de la 3 mix y la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio, el cual mostró el menor efecto antimicrobiano.

La combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico demuestra ser un candidato para el reemplazo a la minociclina.

Palabras clave: Efectividad antimicrobiano, principios activos, metronidazol, ciprofloxacina, minociclina, amoxicilina/ácido clavulánico, hidróxido de calcio.

ABSTRACT

On the use of combination of antibiotics it has been described recently in the literature, especially stomatology because it is born this research "Evaluation of the antimicrobial effect of combinations of active ingredients metronidazole with associating them ciprofloxacin with calcium hydroxide or amoxicillin/clavulanic acid, as replacements minocycline in prevalent anaerobic bacteria in pulp necrosis" where the goal is to evaluate the antimicrobial effectiveness of the active ingredient combination of metronidazole with associating ciprofloxacin with calcium hydroxide or amoxicillin / clavulanate as replacements to minocycline in prevalent anaerobic bacteria in pulp necrosis. Bauer in anaerobic environment - Two ATCC® (melaninogenica Prevotella and Peptostreptococcus anaerobius) strains to test the susceptibility to the combination of the active ingredients by disk diffusion method according to Kirby were used. Reading the results at 24 hours was performed. The greatest antimicrobial activity was produced by the combination of active ingredients of metronidazole with ciprofloxacin associated with amoxicillin / clavulanate, followed by the 3 mix and the combination of active ingredients of metronidazole with ciprofloxacin associated with calcium hydroxide, which showed the least effect antimicrobial.

The combination of active ingredients of metronidazole with ciprofloxacin associated with amoxicillin / clavulanate proves to be a candidate for replacement to minocycline

Keywords: Antimicrobial Effectiveness, active substances, metronidazole, ciprofloxacin, minocycline, amoxicillin / clavulanate, calcium hydroxide.

CARÁTULA	
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
EPÍGRAFE	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE	7
INTRODUCCIÓN	10
CAPÍTULO I	
PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO	
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA	11
1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	14
1.2.1. Delimitación espacial	14
1.2.2. Delimitación temporal	14
1.2.3. Delimitación social	14
1.2.4. Delimitación conceptual	15
1.3. PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN	15
1.3.1. Problema principal	15
1.3.2. Problema secundarios	15
1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	16
1.4.1. Objetivo general	16
1.4.2. Objetivos específicos	16

1.5.	HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	17
1.5.1.	Hipótesis general	17
1.5.2.	Hipótesis secundarias	17
1.5.3.	Identificación y clasificación de variables e indicadores	18
1.5.3.1.	Variable independiente	18
1.5.3.2.	Variable dependiente	18
1.6.	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	18
1.6.1.	Tipo de investigación	18
1.6.2.	Nivel de investigación	18
1.6.3.	Método de investigación	18
1.7.	POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN	19
1.7.1.	Población	19
1.7.2.	Muestra	19
1.8.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN	19
1.8.1.	Técnicas	19
1.8.2.	Instrumentos	26
1.9.	JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	26
1.9.1.	Justificación de la investigación	26
1.9.2.	Importancia de la investigación	27
1.9.3.	Limitaciones de la investigación	27

Capítulo II

MARCO TEÓRICO

2.1	Antecedentes de la investigación	28
2.2	Bases teóricas	33
2.3	Definición de términos básicos	53

Capítulo III

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1	Resultados	55
3.2	Discusión	60
3.3	conclusiones	63
3.4	recomendaciones	64
3.5	Referencias bibliográficas	66
Anexo 1	Matriz de consistencia	73
Anexo 2	Solicitud de autorización para realizar el trabajo de investigación	74
Anexo 3	Certificación del Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud	75
Anexo 4	Certificación de la cepas bacterianas	76
Anexo 5	Certificación del Agar Schaedler	78
Anexo 6	Reactivación de las cepas bacterianas	79
Anexo 7	Ficha de recolección de datos	80
Anexo 8	Fotografías	81

INTRODUCCIÓN

Los antibióticos locales utilizados por separado o más comúnmente en combinaciones fueron utilizados en el tratamiento de las infecciones endodónticas en toda la historia de los antibióticos. La década de los 50 fué un período especialmente activo para la aplicación tópica de pastas antibióticas ^{(1) (2)}. Para que un antibiótico sistémico actúe sobre las bacterias tiene que ser llevado por la circulación de la sangre en el espacio de la pulpa y entrar en contacto directo con las bacterias. Por lo tanto en una pulpa infectada o necrótica debido a la falta de suministro de sangre, los antibióticos tópicos pueden ser eficaces en un espacio pulpar muy limitada y restringida ⁽³⁾.

En la actualidad aparecen nuevos relatos sobre la efectividad tanto in vitro como in vivo de nuevas combinaciones de antibióticos ^{(4) (5)}, como es el caso de la 3 mix ⁽⁶⁾ conformado por metronidazol, ciprofloxacino y minociclina, como una manera novedosa de tratar las piezas deciduas necróticas indicadas para tratamientos de pulpectomía. como medicación intraconducto en caso de retratamientos en dientes permanentes ⁽³⁾, así como también en dientes con ápice incompleto que en la actualidad, se está considerando como un adyuvante de gran valor para los procedimientos de revascularización pulpar.⁽⁷⁾ Su uso se basa en el hecho de que la microflora del conducto radicular consiste en gran parte de anaerobios estrictos, por lo que es necesaria la utilización de medicamentos que actúen sobre cada uno de los microorganismos presentes. ⁽⁵⁾⁽⁸⁾ Sin embargo un problema potencial de esta pasta antibiótica intraconducto es que puede producir resistencia bacteriana. Además, el uso de minociclina intraconducto puede cambiar la coloración de los dientes, con potenciales complicaciones cosméticas. ⁽⁷⁾

Por ello en la presente investigación se pretende evaluar in vitro la efectividad antimicrobiana de combinaciones de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico sobre bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar con la finalidad de determinar cuál de las dos asociaciones mencionadas puede ser un candidato para el reemplazo de la minociclina, y aplicarlo en la práctica clínica y contribuir hacia futuras investigaciones sobre el tema.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las principales condiciones para que se indique la realización del tratamiento endodóntico están relacionadas con el compromiso de la pulpa dentaria que, mediante procesos inflamatorios o infecciosos, puede repercutir en la región periapical. El tejido pulpar y/o periapical acometido por estas patologías requiere de diferentes resultados que deben ser alcanzados durante la terapia, a pesar de que los procedimientos, en líneas generales, sean los mismos. Muchas veces, los procedimientos mecánicos no son suficientes para que se alcancen estos resultados. Por esto, la utilización de coadyuvantes químicos se torna imprescindible para que se puedan alcanzar una mayor limpieza y descontaminación. Esta limpieza, de acuerdo con la patología involucrada deberá poseer una acción bactericida o antiinflamatoria, sin ser tóxica al paciente, y permitir la reparación tisular. ⁽⁹⁾ Se sabe que el tipo de respuesta inflamatoria depende directamente de la cantidad, localización y el tiempo de exposición de los tejidos a los agentes irritantes. ^{(10) (55)}

De esta forma la selección del fármaco debe tomar en cuenta las condiciones patológicas del diente a ser tratado sabiendo que, ante la ausencia de agentes contaminantes, los tejidos periapicales pueden ser reparados. De la misma forma, la realización de un tratamiento en dientes vitales (ya que se encuentran bajo condiciones asépticas) no implica, necesariamente, la utilización de medicamentos intrarradiculares. Ya en dientes infectados, la utilización de las medicaciones tiene por objetivo la eliminación de las bacterias que por ventura, puedan permanecer allí después de la instrumentación. En este caso la medicación de selección ,debe tener un espectro amplio de acción y actuar por un medio prolongado, también debe modular la inflamación de los tejidos periapicales, responsables del proceso de reparación, neutralizar los restos orgánicos que pueda estar presentes; además de ayudar a secar los conductos persistentemente húmedos por el exudado. ⁽⁹⁾

La ecología de los microorganismos en el canal radicular depende de una variedad de factores, como: nutrición, cantidad de oxígeno, estatus pulpar, vía de infección, etc. Las fuerzas selectivas actúan en la microbiota desde el momento en que los primeros microbios entran en el conducto radicular. Cuando la invasión se produce a través de la vía normal de caries dentaria, la microbiota pulpar consiste en gran parte de bacilos y cocos Gram +. ⁽¹¹⁾⁽¹²⁾ En el conducto radicular, el factor de virulencia más importante de las bacterias es su habilidad de adaptación y supervivencia en el conducto radicular en la mayoría de los casos, los nutrientes disponibles para las bacterias y hongos incluyen el tejido pulpar (remanentes) y el exudado inflamatorio que penetra a través del conducto a través del foramen apical, después de que la pulpa se ha vuelto necrótica y la inflamación se ha propagado hacia el área periapical. De esta forma las bacterias en capacidad de fragmentar proteínas y péptidos poseen una ventaja nítida sobre las especies que dependen de la disponibilidad de carbohidratos. Una disponibilidad inadecuada de oxígeno es típica de la mayoría de los casos de infección necrótica del conducto radicular. Además las bacterias facultativas consumen el oxígeno que es dejado en el conducto haciendo que el ambiente sea anaeróbico estricto en el cual predominan en particular cocos Gram+ y bacilos Gram-. ⁽⁹⁾⁽¹³⁾

En consecuencia la microbiota, se transforma en anaeróbica dominada por las especies proteolíticas. Por ende es importante realizar un tratamiento pulpar, que consista en la eliminación de los restos pulpares y la desinfección del conducto radicular así como un sellado adecuado, y así mantener la integridad y la salud de los tejidos orales.⁽¹⁴⁾

En la actualidad aparecen nuevos relatos sobre la efectividad tanto in vitro como in vivo de nuevas combinaciones de antibióticos; ⁽⁴⁾⁽⁵⁾ como es el caso de la 3 mix⁽⁶⁾ conformado por: ciprofloxacino, que es una quinolona de segunda generación, perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas del cual actúa como bactericida por inhibición selectiva de la síntesis de ADN en la bacteria, el metronidazol que ejerce su efecto bactericida al inhibir la síntesis de ácidos nucleicos en los microorganismos obligadamente anaerobio y la minociclina que es un derivado semisintético de la tetraciclina que actúa sobre la síntesis de proteínas, cuya acción es principalmente bacteriostática.⁽³⁾ Sin embargo esta última presenta la desventaja de pigmentar el diente. El mecanismo de actuación se considera que es debido a la quelación que se produce entre el antibiótico y el calcio, depositándose en forma de ortofosfato cálcico tetraciclina en aquellos tejidos que se están mineralizando en el momento de la administración, como cartílagos, huesos o dientes. También se sugiere que el depósito se produce por la unión del antibiótico a elementos como el níquel, magnesio, zinc, nitratos, aluminio y el hierro. ⁽¹⁵⁾

Por ello es motivo de investigación utilizando otros medicamentos con la opción de reemplazarlo. Diferentes autores han propuesto el uso por amoxicilina, cefaclor, ceftriaxona, entre otros, reemplazando a la minociclina demostrando un efecto similar al de la 3 Mix. ⁽⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾ Khemaleelakul y cols. Demostraron los efectos de diferentes antibióticos sobre bacterias obtenidas de abscesos endodónticos agudos, utilizando tanto el método de cultivo, como el de secuenciación de ADN, demostrando que el Augmentin compuesto por amoxicilina/ácido clavulánico por sí solo es eficaz contra todas las bacterias facultativas y anaeróbicas presentes. ⁽¹⁸⁾

Otra alternativa sería el hidróxido de calcio, que es el medicamento más utilizado como medicación intrarradiculares, tanto entre las sesiones como durante

períodos largos de tiempo. Indicado en el control y tratamiento de las reabsorciones radiculares, apicogénesis e inducción de cierre apical, tanto en dientes con o sin vitalidad y, que presenten o no lesión apical. ⁽⁹⁾

1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

- El presente trabajo busca determinar la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino, asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico como reemplazos a la minociclina en bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar.

1.2.1. DELIMITACIÓN ESPACIAL

- Este estudio es llevado a cabo en Lima, en el Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas.

1.2.2. DELIMITACIÓN TEMPORAL

- El estudio por la forma en que ha sido planteado, tiene condiciones para ser considerado una investigación de actualidad, por tanto su ejecución está planteado para el año 2016

1.2.3. DELIMITACIÓN SOCIAL

- La investigación favorece al sector salud, para ello se empleó las Concentraciones Mínimas Inhibitorias al 90% con la finalidad de observar una mayor inhibición del crecimiento bacteriano del cual son extraídos de la tabla Estándar de Susceptibilidad Antibiótica. ⁽²⁵⁾

1.2.4. DELIMITACIÓN CONCEPTUAL

- Efecto antimicrobiano: Sustancia química que, a bajas concentraciones, actúa contra los microorganismos destruyendo o inhibiendo su crecimiento.
- Principio activo: Sustancia a la cual se debe el efecto farmacológico de un medicamento.
- Metronidazol: Antibiótico y Antiparasitario del grupo de los nitroimidazoles con efectos bactericidas
- Ciprofloxacino: Antibiótico del grupo de las fluoroquinolonas con efectos bactericidas.
- Minociclina: Antibiótico del grupo de las tetraciclinas con efectos bacteriostáticos.
- Amoxicilina/ácido clavulánico: Antibiótico del grupo de los betalactámicos aminopenicilínicos con efectos bactericida.
- Hidróxido de calcio: Sustancia ampliamente utilizada en endodoncia.

1.3. PROBLEMAS DE INVESTIGACION

1.3.1. PROBLEMA PRINCIPAL

- ¿En la evaluación de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico, Cuál de ellos, tiene el mayor efecto antimicrobiano frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar?

1.3.2. PROBLEMA SECUNDARIO

- ¿Cuál es la efectividad antimicrobiana de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar?

- ¿Cuál es la efectividad antimicrobiana de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar?

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

- Comparar la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino, asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar.
- Determinar la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar.

1.5. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.5.1. HIPÓTESIS GENERAL

- La combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico tiene mayor efectividad antimicrobiana frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar, que la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio.

1.5.2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS

- La combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio sería significativa frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar.
- la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico sería significativa frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar.

1.5.3. IDENTIFICACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

1.5.3.1. VARIABLE INDEPENDIENTE:

Grupo experimental:

- Combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico.
- Combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio.

Grupo control:

- 3 mix (metronidazol, ciprofloxacino, minociclina)

1.5.3.1. VARIABLE DEPENDIENTE:

- Efectividad antimicrobiana

1.6 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

1.6.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

- **Prospectivo:** porque los datos son registrados conforme a la ocurrencia de los hechos.
- **In vitro:** es llevado a cabo en el Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas.

1.6.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

- El presente trabajo pertenece al nivel cuantitativo.

1.6.3. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

- **Experimental:** pretende determinar la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar.

1.7 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

1.7.1. UNIVERSO:

- Bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar

1.7.2. TAMAÑO TOTAL DE LA MUESTRA

- Considerando que una necrosis pulpar es producto de una infección polibacteriana y teniendo en cuenta que la literatura refiere una mayor prevalencia de microorganismos anaerobios ⁽²⁵⁾, se consideró 2 de los principales géneros anaerobios causantes de esta patología.

1.7.3. TIPO DE MUESTREO

- Muestreo no probabilístico por conveniencia

1.7.4. UNIDAD DE ANÁLISIS

- Cepas bacterianas anaerobias estrictas (Cepas ATCC®): *Prevotella melaninogenica* y *Peptostreptococcus anaerobius* identificadas por género y especie.

1.8. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.8.1. TÉCNICAS

1.8.1.1. OBTENCIÓN DE PERMISOS

- Se gestionó los permisos necesarios, mediante una carta de presentación dirigida a la Dra. Miriam Del Rosario Vásquez Segura directora de la Escuela profesional de Estomatología indicando el nombre del investigador, el título de la tesis, manifestándole que dicha investigación es realizada en el Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud. **(Ver anexo N° 2).**

Y una carta de presentación a la Dra. Carmen Aquije Dapozzo coordinadora del Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas para dar las facilidades a realizar el proyecto de investigación utilizando materiales. **(Ver anexo N°3).**

1.8.1.2. ADQUISICIÓN DE LA MUESTRA

- Se usó 2 cepas bacterianas (anaerobias estrictas) previamente identificadas por género y especie obtenidas del laboratorio Genlab S.A.C **(Ver anexo n°4)**, así como del Agar Schaedler **(Ver anexo n°5)** como medio de cultivo, financiados por el investigador.
- *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337
- *Prevotella melaninogenica* ATCC ® 25845

1.8.1.3. PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

1.8.1.3.1. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES INHIBITORIAS MÍNIMAS

Para el presente estudio se decidió emplear las Concentraciones Inhibitorias Mínimas al 90% con la finalidad de observar una mayor inhibición del crecimiento bacteriano, según lo referido en los antecedentes. ⁽²⁵⁾⁽⁵⁶⁾⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾⁽⁶²⁾

Las cantidades son extraídas de las tablas Standard de Susceptibilidad Antibiótica establecidas en los documentos M11-A7 y M100-S14 del Clinical and Laboratory Standards Institute® (Anteriormente NCCLS®) para microorganismos anaerobios y aerotolerantes. ⁽²⁵⁾

GRUPO EXPERIMENTAL

1. Para *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella melaninogenica*, las CIM90 de la combinación de los principios activos del metronidazol, ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio son: ⁽²⁵⁾⁽⁶³⁾⁽⁶⁴⁾

- Metronidazol: 8ug/ml.
- Ciprofloxacino: 4ug/ml.
- Hidróxido de calcio: 1ug/ml

2. Para *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella melaninogenica*, las CIM90 de la combinación de los principios activos del metronidazol, ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico son: ⁽²⁵⁾⁽⁶⁴⁾

- Metronidazol: 8ug/ml.
- Ciprofloxacino: 4ug/ml.
- Amoxicilina/ácido clavulánico: 2ug/ml

GRUPO CONTROL

3. Para *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella melaninogenica*, las CIM90 de la combinación de los principios activos de la 3mix son: ⁽²⁵⁾⁽⁶⁴⁾

- Metronidazol: 8ug/ml.
- Ciprofloxacino: 4ug/ml.
- Minociclina: 4 ug/ml

1.8.1.3.2. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DEL GRUPO EXPERIMENTAL ⁽²⁵⁾

Solución de la combinación de los principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio, conformada por la unión de las tres soluciones mencionadas en cantidades equivalentes.

- Solución de Metronidazol en Ácido Acético Glacial (8mg/10ml)
- Solución de Ciprofloxacino en Agua Destilada (4mg/10ml)
- Solución de Hidróxido de Calcio en Agua Destilada (1mg/10ml)

Solución de la combinación de los principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico, conformada por la unión de las tres soluciones mencionadas en cantidades equivalentes.

- Solución de Metronidazol en Ácido Acético Glacial (8mg/10ml)
- Solución de Ciprofloxacino en Agua Destilada (4mg/10ml)
- Solución de Amoxicilina/Ácido clavulánico en Agua Destilada (2mg/10ml)

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DEL GRUPO CONTROL ⁽²⁵⁾

Solución de la combinación de los principios activos de la 3 Mix, conformada por la unión de las tres soluciones mencionadas en cantidades equivalentes.

- Solución de Metronidazol en Ácido Acético Glacial (8mg/10ml)
- Solución de Ciprofloxacino en Agua Destilada (4mg/10ml)
- Solución de Minociclina en Agua Destilada (4mg/10ml)

1.8.1.3.3. MATERIALES E INSTRUMENTOS

- Metronidazol: Marca Naturgen. LAB NATURALES Y GENÉRICOS S.A.C
- Minociclina: Marca Genfar, Lab.SANOFI
- Ciprofloxacino: Marca: Biosyntec, Fab: REYOUNG PHARMACEUTICAL CO., LTD-CHINA
- Amoxicilina/ácido clavulánico Marca: Naturgen. LAB NATURALES Y GENÉRICOS S.A.C
- Hidróxido de calcio Marca: hidróxido de calcio LAB: EUFAR
- Ácido acético glacial
- Agua destilada
- (8) Tubos de ensayo
- Gradilla
- Pipetas de vidrio de 1 ml.
- Balanza de precisión (0.0001g)

1.8.1.3.4. PROCEDIMIENTO

Se procedió con la trituración de cada uno de los antibióticos en presentación de tabletas a excepción de la minociclina que se utilizó en capsula del cual no hubo que triturarla, así como del hidróxido de calcio que se comercializa químicamente puro, para ello se utilizó morteros y pilones esterilizados. Todas las cantidades son estrictamente pesadas en una balanza analítica de precisión (hasta 0.0001g o 0.1mg) para así garantizar mejores resultados.

Posteriormente son incorporadas en los tubos de ensayo conteniendo sus respectivos solventes y mezclados hasta lograr un aspecto uniforme, para luego extraerlo en cantidades equivalentes de cada tubo mediante una pipeta de 10ml y ser colocados en un tubo de ensayo estéril conteniendo la combinación para cada grupo. Cada solución será descartada luego de su utilización.

1.8.1.3.5. PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA. MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCOS (KIRBY – BAUER)

INSTRUMENTOS Y MATERIALES

- Medios de cultivo para sensibilidad antibiética
Agar Schaedler (Himedia)
- Sistema Generador de Anaerobiosis
Caja metálica adicionada con velas en su interior
- Tubos de ensayo
- Discos de papel filtro estériles para pruebas de susceptibilidad antibiética
- Pinzas
- Mecheros
- Estufa a 37°C
- Micropipetas
- Pipetas de vidrio de 10 ml.
- Regla metálica
- Cámara fotográfica

SOPORTE SISTEMÁTICO Y EQUIPOS:

- Programa de estadístico (Excel).
- Laptop Lenovo 2 GB de RAM – 500GB de memoria
- USB de 8GB marca Kinston

MATERIALES DE OFICINA:

- Lapiceros
- Hojas Bond
- Corrector

- Folder

RECURSOS HUMANOS:

- Bachiller: Gómez Ramos Luis Alfredo
- Asesor: C.D. Eloy Gamboa Alvarado

INFRAESTRUCTURA:

- Ambiente del Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas.

1.8.1.3.6. PROCEDIMIENTO PARA LA REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS ⁽²⁵⁾

Cada una de las cepas ATCC® son mantenidas en condiciones de refrigeración normal (2 – 8 °C) desde el momento de su adquisición hasta su reactivación en el Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas. Las cepas *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella melaninogenica* están contenidas en sus respectivos envases Kwik – Stick™, luego de retiradas de su envase y siguiendo todas las instrucciones (**Ver anexo N°6**) son sembradas en una placa contenido con Agar Schaedler que es un medio de cultivo enriquecido, y por condiciones de anaerobiosis necesarias para cada bacteria. Este paso se realizará en un tiempo no mayor a 5 minutos.

1.8.1.3.7. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Se utilizó el medio de cultivo Agar Schaedler (HIMEDIA), certificado (**Ver anexo N° 5**) del cual es preparado según las instrucciones del fabricante, se preparó para 4 placas petri. En un espesor de 4mm. Por cada placa.

Se dejó solidificar a temperatura ambiente en un tiempo de 20 min, se procedió a rotular las placas en la parte inferior con el nombre de las combinaciones de los principios activos a utilizar que fué (metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio, metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico y 3 mix (metronidazol, ciprofloxacino y minociclina)

1.8.1.3.8. PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA

Se procedió a realizar la siembra de cada una de las especies bacterianas (*Prevotella melaninogenica* y *Peptostreptococcus anaerobius*) en las placas petri respectivamente (por triplicado para la colocación de los discos). Con el hisopo del envase del Kwik –Stick™ se realizó el depósito de la suspensión en las placas con Agar Schaedler, realizándose una siembra por disseminación. Tanto para el sembrado *Prevotella melaninogenica* como del *Peptostreptococcus anaerobius*.

Se utilizó una pinza estéril para cada bacteria, en la cual se colocó 03 discos estériles para antibiograma en cada una de las placas, a una distancia no menor de 15 milímetros entre ellos y a 1,5 cm. del borde de la placa, presionándolos firmemente sobre la superficie del agar. Con la ayuda de una micropipeta se depositó en cada disco 10 microlitros de cada una de las combinaciones de las soluciones.

Luego de la siembra, las placas están invertidas y son colocadas en una caja metálica adicionado con velas encendidas en su interior para consumir el oxígeno presente y sellándola herméticamente con cinta maskintape, para luego ser llevado a una estufa a 37°C por 1 semana (168horas), esperando la inhibición del crecimiento bacteriano en anaerobiosis y con altas concentraciones de CO₂ (anaerobiosis total). A la lectura macroscópica, los halos de inhibición formados son medidos con una regla calibrada sobre la superficie de la placa petri y con luz refleja. Cuyos resultados obtenidos son llevados a la ficha de recolección de datos. **(Ver anexo N° 7)**

1.8.2. INSTRUMENTOS

1.8.2.1. PLAN DE ANALISIS DE DATOS

- Se realizó una ficha de datos (**ver anexo n°7**) en el cual se anotan los resultados obtenidos de la prueba de susceptibilidad antibiótica a la combinación de los principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico como también de la 3 Mix. La recolección de los datos se realizó de forma manual y visualmente. Para la medición de los halos se empleó una regla calibrada. Se realizó las tablas y gráficos en el programa Microsoft Excel. Se aplicó la prueba estadística paramétrica T de Student y Anova One Way, para establecer la significancia que puede existir entre cada grupo de estudio.

1.9. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

1.9.1 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

- La 3Mix ha sido desarrollada como una manera novedosa de tratar las piezas deciduas necróticas indicadas para tratamientos de pulpectomía. como medicación intraconducto en caso de retratamientos en dientes permanentes ⁽³⁾, además los médicos más sagaces también se dieron cuenta de, que sería un adyuvante de gran valor para los procedimientos de revascularización pulpar en dientes con ápice incompleto, ya que podría usarse para crear un entorno favorable para el crecimiento invasivo de los vasos y las células en la regeneración pulpar de ápice no formado⁽⁷⁾. Sin embargo uno de sus componentes que lo constituye que es la minociclina presenta la desventaja de pigmentar el diente. Por ello se ha optado en utilizar otras medicaciones como la amoxicilina/ácido clavulánico y el hidróxido de calcio con la finalidad de sustituir a la minociclina.

1.9.2. IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

- **IMPORTANCIA CLÍNICA:** Es beneficioso para que, con esta investigación se pueda utilizar de manera clínica.
- **IMPORTANCIA SOCIAL:** este estudio desde el punto de vista social, está considerando en gran medida a la población vulnerable ya que en un contexto clínico especializado problemas subyacentes de este tratamiento no afectaría al paciente.

1.9.3. LIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

- Dificultad en adquirir las bacterias debido al elevado costo y tiempo en traerlo.
- Dificultad en adquirir el Agar Schaedler debido al elevado costo y tiempo en traerlo.
- Existe poca información en nuestro país acerca de las características, propiedades y empleo de la pasta 3Mix. Así como de los medicamentos utilizados en reemplazo a la minociclina siendo muy poco utilizado e investigado
- Se requiere de personal y equipos altamente especializados, así como en procesos químicos y análisis estequiométricos.

Como se puede apreciar todas las limitaciones fueron superadas, por lo tanto fue factible la culminación en el tiempo establecido.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Sato T, Hoshino E., Uematsu H. y Cols. (1993) En Japón, realizaron un estudio para establecer y aclarar la eficacia de una mezcla de drogas compuesta por ciprofloxacina, metronidazol más un tercer antibiótico: amoxicilina, cefaclor, cefroxadine, fosfomicin o rokitamycin en bacterias de lesiones cariosas y endodónticas de dientes primarios humanos extraídos, in vitro. Para evaluar la eficacia cultivaron muestras de dentina cariada (17 casos) y de tejidos pulpaes infectados (14 casos) en placas control y placas conteniendo la mezcla de drogas y observaron que ninguna bacteria fue recuperada en presencia de ésta. Asimismo, cubrieron las superficies de las lesiones de los dientes recién extraídos con cemento de fosfato alfatricálcico conteniendo una mezcla de ciprofloxacina, metronidazol y cefaclor (1% cada uno, en 5 casos) y observaron que tampoco se recuperó ninguna bacteria de las lesiones, y por último sumergieron las muestras en una solución de la mezcla (200ug cada una/ ml.) sin poder recuperar ninguna bacteria; concluyendo que las lesiones cariosas y endodónticas pueden ser esterilizadas por la mezcla de drogas in situ.⁽¹⁹⁾

Sato J, Ando – Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. (1996) En Japón observaron el potencial antibacteriano de una mezcla de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina en los túbulos dentinarios de la dentina radicular infectada in situ. Los conductos radiculares fueron irrigados previamente con 0.4 ml de EDTA antes de la aplicación de la mezcla antibiótica. La penetración y la eficacia bactericida se calcularon a través de periodos de observación y mediante varios procedimientos (recuento de bacterias y medición de zonas de inhibición), de tal manera que al final no se recuperó ninguna bacteria de la dentina radicular, excepto en un caso en el cual se recuperaron unas pocas bacterias demostrando el efecto antibacteriano de la combinación de estas tres drogas en las paredes de conductos infectados. ⁽⁵⁾

Hoshino E., Kurihara Ando, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, Iwaku M. (1996) En Japón realizaron este estudio con el objeto de establecer el efecto antibacteriano de una mezcla de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina, con y sin la adición de Rifampicina, en bacterias tomadas de dentina radicular infectada, así como de dentina cariada y tejido pulpar infectado. La eficacia se estimó in vitro mediante la recuperación de bacterias en placas agar (sangre BHI) en presencia o ausencia de la combinación de drogas antibacterianas (10, 25, 50 y 75 ug/ml). No se recuperaron ninguna de las muestras en presencia de la combinación de drogas (25 ug. / ml.) Lo que indica la potencia y eficacia bactericida de las drogas contra los microorganismos presentes en los conductos radiculares infectados o dentina cariada. ⁽⁶⁾

Hoshino E., Hiroyuki U., y col. (2005) En Japón evaluaron la susceptibilidad del enterococcus a una combinación de drogas antibacterianas: metronidazol, ciprofloxacina, minociclina (3Mix), la cual es usada para la terapia de esterilización de lesiones y reparación tisular (LSTR). El enterococcus faecalis ha sido reportado como causante de infecciones persistentes en los conductos radiculares, especialmente después de usar hidróxido de calcio como revestimiento, mostrando frecuentemente tolerancia a ciertas drogas antibacteriales.

Las concentraciones inhibitorias mínimas de ciprofloxacina y minociclina en enterococcus faecalis y E. faecium fueron 5 – 20 ug/ml respectivamente y no se observó efecto inhibitorio con el metronidazol.

La 3Mix (100ug/ml.) como mezcla, inhibió completamente el crecimiento de cada cadena. Adicionalmente la 3Mix también inhibió el crecimiento en E. faecies (116 muestras). Los resultados obtenidos indicaron que 3 Mix es suficientemente capaz de inhibir el crecimiento del enterococcus y puede ser útil para el tratamiento endodóntico en casos donde se sospeche de la presencia de esta bacteria. ⁽²⁴⁾

Hoescher AA, Bahcall JK, Maki JS. (2006) estudiaron in vitro efectos antimicrobianos de cinco antibióticos (amoxicilina, penicilina, clindamicina, metronidazol y doxiciclina) cuando se añaden al cono de obturación de gutapercha Kerr EWT. Los resultados revelaron que la combinación del cono de obturación con amoxicilina, penicilina, clindamicina o doxiciclina tuvo una diferencia significativa en las zonas de inhibición frente al Enterococcus faecalis en comparación con el cono de obturación EWT Kerr aislado. ⁽¹³⁾

Nosrat A. Li KL, Vir K, Hicks ML, Fouad AF (2013) utilizó otra medicación como la amoxicilina con ácido clavulámico (Augmentin, GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC) logrando resultados clínicamente aceptables. En este caso describe el tratamiento de un paciente con un incisivo central superior derecho inmaduro con antecedentes de traumatismo por impacto y fractura de la corona comprometiendo esmalte-dentina. El diagnóstico de necrosis pulpar con absceso apical agudo se estableció. Utiliza una pasta que contiene Augmentin del cual fue usado 5 semanas como medicamento intraconducto. Resultados: seguimientos a las 9, 12, 17, y 31 meses revela la curación completa de la lesión ósea periapical y formación del ápice de la raíz, pero sin aumento de la longitud de la raíz. Clínicamente, el diente era funcional, asintomático, y que no responde a las pruebas de vitalidad pulpar. Conclusiones: Augmentin podría ser una opción aceptable para la desinfección del conducto radicular en procedimientos de endodoncia regenerativas. ⁽²⁷⁾

Iwaya S, Ikawa M, Kubota M (2001) utilizó solo el metronidazol con la ciprofloxacino, en un segundo premolar inferior necrótico en un paciente de 13 años de edad, el examen radiográfico mostró el inicio de cierre apical 5 meses después del tratamiento .se presenció engrosamiento de la pared del canal y el cierre apical completo del cual es confirmado 30 meses después de finalizar el tratamiento. ⁽²⁸⁾

Carreira CM, Santos SSF, Jorge AOC, Lage - Marques JL (2007) Manifestó que en algunas situaciones, las infecciones endodónticas no responden al protocolo terapéutico En estos casos, recomienda la administración de una medicación intraconducto alternativo que presente un amplio espectro de acción y tener un efecto profundo en el sistema de conductos radiculares. El propósito de su estudio fue evaluar la acción antimicrobiana de ciprofloxacino, metronidazol y polietilenglicol y natrosol vehículos con diferentes asociaciones y concentraciones. La concentración mínima inhibitoria (MIC) se determinó mediante el método de dilución en agar. Los medios de cultivo (agar Müller-Hinton) se prepararon conteniendo agentes antimicrobianos en múltiples diluciones de 0,25 a 16 mg / mL, y con los vehículos en las concentraciones de 50, 45, 40, 35, 30 y 25%. Veintitrés cepas microbianas fueron seleccionadas para el estudio. El metronidazol no era capaz de eliminar cualquiera de los microorganismos ensayados. La asociación de ciprofloxacino con metronidazol resultó en una reducción de la MIC. El polietilenglicol vehículo inhibió el crecimiento de 100% de las cepas probadas, mientras que Natrosol inhibió 18% de las cepas. Las formulaciones de ciprofloxacina polietilenglicol presentan mejores efectos que los de las formulaciones a las que se añadió metronidazol. Fue posible concluir que la ciprofloxacina presentó acción antimicrobiana contra todas las cepas bacterianas probadas, y su asociación con el metronidazol fue sinérgica. El polietilenglicol vehículo mostró efecto antimicrobiano y de la ciprofloxacina asociación / polietilenglicol era la combinación más eficaz para reducir las bacterias y levaduras ensayadas. ⁽²⁹⁾

ANTECEDENTES NACIONALES

Quispe Salcedo Angela (2007) El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de la combinación de drogas 3Mix, formada por metronidazol, ciprofloxacina y minociclina, contra microorganismos anaerobios estrictos y facultativos prevalentes en conductos radiculares de piezas deciduas con necrosis pulpar. Se utilizaron seis cepas ATCCR de bacterias anaerobias estrictas y facultativas para probar la susceptibilidad a la combinación de drogas 3Mix y sus componentes mediante el método de disco Difusión Kirby – Bauer en medio anaerobio. Se realizó la lectura de los resultados a las 24 y 48 horas observándose amplios halos de inhibición en todas las bacterias. La mayor actividad antibacteriana fue producida por la solución de metronidazol seguida por la combinación de drogas 3Mix, minociclina y ciprofloxacina el cual mostró el menor efecto antibacteriano. La bacteria *Prevotella melaninogenica* fue la más susceptible a la combinación de drogas 3Mix demostrando mayor efectividad sobre microorganismos anaerobios estrictos y la ausencia de antagonismo farmacológico entre sus componentes. ⁽²⁵⁾

2.2 BASES TEORICAS

2.2.1 PULPA DENTAL

La pulpa dental es un tejido conjuntivo que se encuentra en el interior de una cámara de dentina y se relaciona con el área periapical a través del agujero apical. La integridad del esmalte y de la dentina protege la pulpa y constituye una barrera física que, no obstante, al estar encerrada en su interior, le impide la distensibilidad. Por otra parte, a través del agujero apical, la pulpa presenta una limitada comunicación vascular y nerviosa con el resto del organismo. Hay que tener en cuenta, en condiciones normales, que la integridad de los tejidos duros dentarios (esmalte, dentina y cemento radicular) protege a la pulpa de la infección por microorganismos ⁽¹³⁾

2.2.1.1 FACTORES ETIOLÓGICOS DE LA ENFERMEDAD PULPAR Y PERIAPICAL

Los estímulos capaces de producir inflamación y necrosis de la pulpa, así como sus complicaciones periapicales son múltiples, pueden ser divididos en cuatro categorías.⁽³⁰⁾

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 que los túbulos dentinarios son permeables. Los géneros y especies bacterianas son diversos y pueden llegar a la pulpa a través de varias vías como caries dental, periodonto, traumatismos, filtración marginal, anomalías de desarrollo.

FACTORES TRAUMÁTICOS

La respuesta a traumatismos tales como golpes o accidentes puede ser variable, algunas pulpas aparentemente se 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 con la cavidad bucal, pero si la necrosis pulpar, las bacterias pueden llegar por anacoresis.

FACTORES IATROGÉNICOS

Entran en esta categoría aquellos procedimientos restauradores que generen calor y desecación de túbulos dentinarios, productos y sustancias químicas que puedan provocar una irritación pulpar.

FACTORES IDIOPÁTICOS

Podemos señalar aquí a la resorción interna o factores desconocidos que puedan causar enfermedad pulpar y/o periapical.

2.2.1.2 CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LAS ENFERMEDADES PULPARES

Desde un punto de vista estrictamente clínico, adoptaremos la siguiente clasificación. ⁽¹⁴⁾ A continuación se describirán cada una de ellas poniendo énfasis en la definición de necrosis pulpar por ser esta base del presente trabajo de investigación. ⁽²⁵⁾

VITAL

La pulpa se encuentra clínica y funcionalmente normal.

ESTADOS REVERSIBLES:

PULPITIS REVERSIBLES:

Es un estado inflamatorio de la pulpa, caracterizado por la presencia de fenómenos vasculares que aún se mantienen dentro de los límites fisiológicos.

Síntomas

Los cambios de temperatura producen dolor, especialmente al frío. También puede ser causado por dulces o ácidos. Por consiguiente, el dolor no es espontáneo sino provocado, Es de naturaleza aguda, punzante y desaparece con el retiro del estímulo.

Examen clínico:

Puede observarse una cavidad con exposición dentinaria o una restauración reciente. Radiográficamente la zona apical es normal.

Diagnóstico:

Se realiza tomando en consideración los síntomas, con el complemento de exámenes clínicos auxiliares.

Pronóstico:

Bueno.

ESTADOS IRREVERSIBLES**PULPITIS AGUDA**

Es la continuación del estado inflamatorio pulpar .Frecuentemente los causantes de esta situación son los procedimientos odontológicos incorrectos (fresados sin la debida refrigeración, exposiciones pulpares inadvertidas, falta de protección pulpar, etc.)

Síntomas

Dolor paroxístico espontáneo causado, al inicio, por cambios de temperatura por dulces o alimentos ácidos. El dolor es agudo, punzante o pulsátil y difiere de los estados reversibles por ser más severo y permanecer después del retiro del agente irritativo. Puede ser intermitente, pero posteriormente se hace continuo y muy intenso. Se incentiva al inclinar la cabeza, por incremento de la presión sanguínea.

En las etapas finales del dolor puede acentuarse con el calor y algunas veces, disminuye con el frio si la inflamación o infección pasara a través del foramen causaría una periodontitis, quedando el diente sensible a la mordida.

Examen clínico:

El diente se presenta muy sensible al simple contacto .el umbral de reacción es muy bajo, por lo que se requería una estimulación pequeña en las pruebas de vitalidad.

El calor exagera el dolor; en tanto que el frío, en algunos casos, podría calmarlo (pulpitis abscedosa). Radiográficamente se observa una cavidad profunda abierta u obturada, con aparente compromiso pulpar. Los tejidos apicales se muestran normales.

Diagnóstico:

Los signos y síntomas son determinantes siendo el diagnóstico sencillo.

Pronóstico

Es desfavorable para la supervivencia de la pulpa, siendo imposible su recuperación. Eventualmente, puede permanecer en estado crónico y asintomático; el mismo que se reagudizara si las condiciones se modifican.

PULPITIS CRÓNICA

Muestra las características típicas de toda inflamación crónica

Síntomas:

Si los hubiera, los síntomas son de larga duración. El dolor es sordo, tolerable, intermitente, espontáneo, controlable por el propio paciente. Sin embargo, si las condiciones cambian, el estado pulpar crónico puede agudizarse, estableciéndose lo que se denomina un pulpitis crónica reagudizada, con las mismas características que el cuadro anterior.

Examen clínico:

A la inspección se observa una cavidad amplia abierta o cerrada por tiempo prolongado. No es sensible a la palpación ni a la percusión. No presenta movilidad. La respuesta a la prueba de vitalidad eléctrica se ve aumentada y su respuesta a los cambios térmicos es tardía. En el examen radiográfico se aprecia compromiso de la cámara pulpar y en ocasiones engrosamiento del periodonto apical.

Diagnóstico

Se determina por la sintomatología prolongada, la disminución de la respuesta a las pruebas de vitalidad y por los hallazgos clínico-radiográficos.

Pronóstico:

En todos los casos la pulpa morirá.

- **Pulpitis crónica hiperplásica**

Síntomas:

Asintomática

Examen clínico:

Se presenta en personas jóvenes con lesiones cariosas amplias, donde los bordes de la cavidad sirven de estímulo irritativo leve sobre la pulpa dentaria; dando como resultado una masa roja friable de gran tamaño que llena o rebasa la lesión coronaria. Es insensible, pero rápidamente sangrante. Puede cubrirse de epitelio debido al traslado de células epiteliales descamadas de la mucosa bucal. A este tejido se la llama comúnmente “pólipo pulpar”.

NECROSIS PULPAR

NECROSIS ASÉPTICA

Generalmente de origen traumático sin participación de microorganismos. La ruptura del paquete vasculo-nervioso a nivel apical, conlleva la muerte del tejido pulpar por falta de irrigación y nutrición.

Síntomas

Si es inmediato a un accidente, el diente puede mostrarse móvil y aun extruido por avulsión.

Examen clínico

La corona puede mostrarse de una coloración rojiza por hemorragia interna. En estas condiciones, la pulpa está en estado de shock; siendo imposible determinar con certeza el grado de vitalidad hasta después de 30 días.

En otros casos de historia de trauma antiguo, el diente se presenta asintomático; pero con cambios de coloración coronaria que varía del amarillo parduzco al negro o marrón café oscuro.

Diagnóstico

La historia de golpe o accidente es importante; igualmente el hallazgo de fracturas coronarias o cambios de color. Radiográficamente es posible encontrar calcificación parcial o total de la cámara pulpar o conducto radicular, en caso de mayor antigüedad. La respuesta a las pruebas de vitalidad es negativa.

Pronóstico:

Reservado en los casos de trauma reciente. Desfavorable en los demás casos.

NECROSIS SÉPTICA

Es la muerte pulpar por invasión bacteriana, generalmente derivada de una lesión cariosa. También, puede ser consecuencia de una pulpitis crónica no tratada.

Síntomas

La sintomatología es variable, mientras en unos casos el diente se encuentra asintomático otros es severa. El diente se torna doloroso, sensible a la palpación, a la masticación y a veces al simple contacto. El dolor puede volverse espontáneamente muy intenso, agravándose con el calor.

Examen clínico

El diente presenta una lesión cariosa muy extensa o restauraciones antiguas amplias .las pruebas de vitalidad pulpar son negativas, El examen radiográfico muestra compromiso del periodonto apical y en algunos casos compromiso de los tejidos periapicales. La necrosis séptica esta generalmente asociada a una lesión infecciosa del periápice.

Diagnóstico:

El paciente referirá una historia dolorosa antigua, con episodios de intensidad variable. No presenta signos de vitalidad pulpar, el examen radiográfico muestra engrosamiento del periodonto apical o una lesión osteolítico periapical.

Pronóstico:

Desfavorable para la pulpa dentaria.

SECUELAS DE LA NECROSIS SÉPTICA

Constituyen la consecuencia del sobrepase hacia los tejidos periapicales de las bacterias y sus toxinas contenidas en el conducto radicular afectándolos.

(31)(32)(33)(34)

Clasificación:

1. Periodontitis apical aguda
2. Periodontitis apical crónica
 - 2.1 Granuloma apical

- 2.2 Quiste apical
- 2.3 Osteítis condensante
- 3. Absceso apical agudo
- 4. Absceso apical crónico

PERIODONTITIS APICAL AGUDA

Se caracteriza por inflamación de la membrana periodontal apical. El dolor a la percusión es el síntoma característico. En casos extremos en diente puede presentarse sumamente sensible aún al menor contacto, con una sensación de extrusión dentaria. Al examen radiográfico puede observarse ligero engrosamiento del ligamento periodontal.

En otros casos las estructuras periapicales, periodonto y lamina dura se mantienen normales. Las pruebas de vitalidad pulpar generalmente son negativas por tratarse de dientes necróticos, excepcionalmente en algunos casos de pulpitis puede obtenerse algún grado de respuesta.

PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA

Es una inflamación de larga evolución de los tejidos del periápice. Generalmente es asintomática. A la palpación del fondo del vestíbulo del diente afectado, puede presentar una ligera molestia causada, probablemente, por cambios que se van produciendo tanto en la cortical ósea como en el hueso trabecular. A la percusión no hay dolor o una leve molestia. El diente no responde a las pruebas de vitalidad pulpar por ser un diente necrótico.

Al examen radiográfico se aprecia desde una pérdida de la lámina dura y engrosamiento del espacio periodontal hasta lesiones osteolíticas de menor a mayor extensión.

Clasificación. Histológicamente se clasifican como granulomas y quistes apicales.

(35)

Granuloma apical

Es una entidad patológica conformada por tejido de granulación como respuesta defensiva a los estímulos irritativos provenientes del conducto radicular infectado. Generalmente es asintomático. Cabe la posibilidad que se complique con la formación de un absceso en su contenido o también puede epitelizarse provocando síntomas y signos propios de cada entidad. A la inspección, palpación, movilidad, no ofrecen sintomatología alguna.

Al examen radiográfico se aprecia una imagen radiolúcida con bordes más o menos definidos, de forma más bien redondeada que circunda el ápice radicular. Esta imagen es similar a la que nos ofrece un absceso crónico apical o un quiste radicular, siendo imposible su diferenciación por este método de diagnóstico. Según diversos estudios histopatológicos ⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾ estas lesiones serían las de mayor frecuencia presente en la región periapical.

Quiste apical o paradentario

Se caracteriza por la formación de una cavidad ósea en el área periapical, rodeada de epitelio y con un contenido fluido en su interior. Son más frecuentes en el maxilar superior. Su incidencia reportada varía del 6% al 55%. ⁽³⁹⁾ Tanto en la membrana periodontal como en el hueso circundante al ápice radicular se encuentran células epiteliales conocidas como los restos epiteliales de Malassez que derivan de la desintegración de la vaina epitelial de Hertwig.

Estas células permanecen dormidas o inactivas hasta que reciben el estímulo de algún agente irritativo que promueve su proliferación celular. En algunos granulomas apicales también es posible encontrar tejido epitelial estratificado. 45% son granulomas epitelizados que eventualmente pueden ser el origen de futuras formaciones quísticas. ⁽⁴⁰⁾

Son lesiones que tienen una evolución silenciosa. Pueden ser descubiertos por un examen radiográfico de rutina, presentando una imagen osteolítica bien definida, rodeado por una línea radiopaca que no siempre está presente.

Cuando la lesión adquiere un mayor tamaño la imagen radiográfica se acompaña de otros signos clínicos como: asimetría facial, aumento de volumen o elevación de la tabla ósea, sensación de renitencia o rebote a la palpación, movilidad dentaria o desplazamiento dentario por compresión del contenido quístico.

Osteítis condensante:

También es llamada osteítis esclerosante focal, osteoesclerosis perirradicular, osteítis esclerosante, hueso esclerótico además se menciona como periodontitis apical condensante. ⁽⁴⁰⁾ Es la respuesta a una inflamación crónica leve del área perirradicular como resultado de una irritación moderada vía el conducto radicular. Se presenta más frecuentemente en personas jóvenes. Su etiología es una actividad pulpar que estimula la actividad osteoblástica del hueso alveolar. Es asintomático descubierto durante exámenes radiológicos de rutina, Radiográficamente se muestra como una lesión radiopaca difusa, caracterizada por una reacción ósea localizada. El diagnóstico se establece a través del examen radiográfico. Se observará un área de radiopacidad localizada alrededor del diente afectado.

ABSCESO APICAL AGUDO

Es una inflamación de los tejidos circundantes al foramen apical con formación de colección purulenta en el tejido osteoalveolar periapical. Es el cuadro clínico más dramático que puede presentar un paciente.

El dolor que experimenta es insoportable, muy intenso, violento pulsátil irradiado, va acompañado de edema de los tejidos con tumefacción de la región, enrojecimiento del área comprometida y presencia de ganglios infartados, la pieza dentaria puede presentarse muy sensible y extruida dificultando su normal oclusión. Al examen radiográfico, inicialmente puede observarse los tejidos periapicales normales o con un ligero engrosamiento periodontal, posteriormente, luego de 3 o 4 días, ya se evidencia una imagen radiolúcida como consecuencia de la destrucción ósea.

ABSCESO APICAL CRÓNICO

Una vez controlado el absceso alveolar agudo pasa a un periodo de latencia o fase crónica, en esta situación el paciente rara vez presenta sintomatología, pueden pasar años y aún toda la vida sin que existan molestias. Clínicamente se puede observar la presencia de un tracto fistuloso en la zona de la mucosa de vecindad o periapical, pocas veces puede evidenciarse una fistula cutánea. Por ser una consecuencia de la necrosis séptica pulpar no ofrece ninguna reacción a las pruebas de vitalidad. Radiográficamente se observa un área radiolúcida periapical compatible con el cuadro abscedosa .Puede observarse algún grado de reabsorción radicular.

2.2.2. MICROBIOLOGÍA DE LOS CONDUCTOS RADICULARES EN NECROSIS PULPAR

Los dientes comparten el microambiente de la cavidad bucal con alrededor de 500 especies bacterianas. Cuando el esmalte y la dentina están intactos, protegen a la pulpa. Si esa protección se rompe, algunos microorganismos pueden llegar hasta ella. Aunque hay diversos caminos para que las bacterias lleguen a la pulpa, el modo más frecuente es mediante la caries, en el cual poco a poco se aproximan hasta alcanzarla. ⁽⁵⁵⁾ En una infección endodóntica, la mayor parte de las bacterias son anaerobios estrictos, aunque también podemos encontrar un buen número de bacterias anaerobias facultativas y bacterias microaerófilas.

Las bacterias anaerobias estrictas proliferan únicamente en ausencia de oxígeno pero tienen sensibilidad variable a este; funcionan a potenciales de oxidación y reducción bajos y generalmente carecen de las enzimas dismutasa de superóxido y catalasa.

Las bacterias microaerófilas pueden multiplicarse en un medio con oxígeno pero obtienen predominantemente su energía de vías anaerobias. Las bacterias anaerobias facultativas se reproducen en presencia o ausencia de oxígeno y suelen tener enzimas dismutasa de superóxido y catalasa. Los aerobios obligados (estrictos) se encuentran en una mínima cantidad y requieren oxígeno para multiplicarse y poseen tanto dismutasa de superóxido como catalasa ⁽⁴¹⁾

Bacterias aerobias y anaerobias facultativas aisladas en las necrosis pulpaes⁽³⁰⁾

FORMA	TINCIÓN	GENERO	ESPECIE
COCOS	Grampositivos	Streptococcus	Mitis Milleri Oralis Intermedius Morbiliorum Constellatus Mutans Sanguis Mitior
		Enterococcus	Faecalis Faecium
		Staphylococcus	Aureus Epidermidis
BACILOS	Grampositivos	Corynebacterium	Xerosis
		Lactobacillus	Catenaforme Minutus
		Actinomyces	Odontolyticus Naeslundii Israelii Meyeri Viscosus
		Propionobacterium	Acnés Propionicus
	Gramnegativos	Eiknella	Corrodens
		Capnocytophaga	Ochracea
		Actinobacillus	Sp Rectus
		Campylobacter	Sputorum Curvus
LEVADURAS		Candida	Albicans Glabrata Guilliermondii
		Geotrichum	Candidum

Bacterias anaerobias estrictas aisladas en las necrosis pulpaes ⁽³⁰⁾

FORMA	TINCIÓN	GENERO	ESPECIE
COCOS	Grampositivos	Peptoestreptococcus	Micros Anaerobius Prevotii Magnus Assacharolyticus
		Peptococcus	Sp
	Gramnegativos	Veillonella	Parvula
BACILOS	Grampositivos	Eubacterium	Alactolyticum Lentum Timidum Brachy Nodatum
	Gramnegativos	Porphyromonas	Gingivalis Endodontalis
		Prevotella	Intermedia Nigrescens Oralis
		Mitsoukella	Oris Buccae Melaninogenica Sp
		Fusobacterium	Nucleatum Necrophorum Fusififormis Varium
		Selenomonas	Sputigena
		Treponema	Denticola Socranski Pectinovorum Vincentii

2.3 MEDICAMENTOS INTRACONDUCTO

La medicación intraconducto se caracteriza por la colocación de un fármaco en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento endodóntico. La literatura médica emplea las expresiones medicación entre sesiones, medicación local y medicación intraconducto para denominar este procedimiento. El uso de un medicamento intraconducto se considera uno de los pasos más importantes de la terapia endodóntica para obtener y mantener la desinfección del conducto radicular después de la instrumentación y antes de la obturación, incrementando significativamente las posibilidades de lograr un tratamiento endodóntico exitoso. Los objetivos de la medicación, así como las sustancias y las técnicas utilizadas difieren entre sí en función de la situación clínica del diente en tratamiento.⁽⁵⁵⁾

En los casos de dientes con pulpa viva, la contaminación bacteriana, si existe no será masiva y quedará restringida a las porciones más superficiales de la pulpa. Una limpieza bien realizada facilitará por cierto la eliminación de los microorganismos. En esa situación, la medicación intraconducto servirá para el control de la inflamación, consecuencia del acto quirúrgico.⁽⁵⁵⁾

En los dientes con pulpa mortificada, el contenido microbiano y tóxico de la cavidad pulpar determina la opción por sustancias antisépticas. La medicación intraconducto será entonces un auxiliar valioso en la desinfección del sistema de conductos radiculares, sobre todo en lugares inaccesibles a la instrumentación, como las ramificaciones del conducto principal y los túbulos dentinarios.⁽⁵⁵⁾

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

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

La elección de una medicación intraconducto entre sesiones ha sido rutina en la práctica endodóntica por muchos años como coadyuvante en el control de la contaminación bacteriana por ello requiere de las mismas consideraciones que la aplicación de cualquier fármaco en otra región del organismo humano. Por lo tanto es necesario considerar: ⁽⁵⁵⁾

a. Cantidad. Se debe precisar la cantidad y la concentración del fármaco, para ejercer el efecto deseado sin lesionar los tejidos circundantes.

b. Localización. Es indispensable tener en cuenta el mecanismo de acción de la sustancia para determinar la forma apropiada para su colocación. Por ejemplo, en los casos de necrosis pulpar con imagen apical, al utilizar hidróxido de calcio, que actúa por contacto, debe llenarse todo el conducto radicular con el medicamento

c. Tiempo de aplicación. Es preciso conocer el tiempo que la sustancia permanece activa. Cada una tiene un tiempo de vida útil, después del cual su efecto se reduce o desaparece. Algunos medicamentos pierden sus propiedades en presencia de material orgánico como sangre, exudado y pus.

La selección del fármaco debe tomar en consideración que los antisépticos capaces de controlar la infección pueden ocasionar también irritación o destrucción de los tejidos vivos periapicales.

2.2.3.1 PASTA ANTIBIÓTICA 3 MIX

La pasta 3Mix ha sido desarrollada durante los últimos años como una manera novedosa de tratar las piezas deciduas necróticas indicadas para tratamientos de pulpectomías, facilitando su procedimiento y mejorando los resultados clínicos. En los últimos años la Facultad de Odontología de la Universidad de Nigata, en Japón ha desarrollado el concepto de “Esterilización de Lesiones y Reparación Tisular”, o también denominada terapia LSTR, la cual emplea una mezcla de antibióticos para la desinfección de infecciones orales producidas por piezas dentarias teniendo la capacidad de difundirse a través de los conductos radiculares hasta la zona periapical y ejercer su acción bactericida in situ.

Los estudios realizados ⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²³⁾ han demostrado que 3Mix es capaz de eliminar las bacterias de tejidos dentales infectados de dientes deciduos y permanentes, constituyéndose como una excelente alternativa para piezas primarias indicadas para tratamientos de pulpectomía.

Otros estudios han demostrado su eficacia en tratamientos endodónticos en piezas permanentes ⁽²⁴⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾ como por ejemplo como medicación intraconducto en casos de retratamientos, infecciones recurrentes por *Enterococcus faecalis* o en casos de lesiones periapicales crónicas producto de perforaciones radiculares. La pasta 3Mix consta de dos partes: polvo y líquido. El polvo está formado por una combinación de tres antibióticos los cuales son: metronidazol, ciprofloxacina y minociclina en una proporción de 1:1:1; y la parte líquida está formado por una combinación de macrogol y propylenglicol, también en proporción 1:1, estos últimos actúan como vehículos transportadores de los antibióticos.

METRONIDAZOL

Medicamento antiinfeccioso de la familia de los Nitromidazoles que tiene actividad in vitro contra una amplia variedad de parásitos protozoarios anaerobios. Posee actividad antibacteriana contra todos los cocos anaerobios y bacilos gramnegativos anaerobios, incluidas especies de bacteroides y bacilos grampositivos expógenos anaerobios, los bacilos grampositivos no esporulados son resistentes al igual que las bacterias anaerobias facultativas y las aerobias. ⁽⁴⁴⁾

Su uso está indicado en infecciones anaerobias y parasitarias, ya que ejerce su efecto bactericida al inhibir la síntesis de ácidos nucleicos en los microorganismos obligadamente anaerobios, independientemente de la fase de crecimiento bacteriano ⁽⁴⁵⁾Se absorbe bien por vía oral (aproximadamente al 80%), atraviesa la placenta y la barrera hematoencefálica. Su unión a proteínas plasmáticas es baja solamente del 10 al 20%, aproximadamente. Su tiempo de vida media es de 8 horas. Se metaboliza principalmente en el hígado. Un 60 a 80% de la dosis se elimina por vía renal, la mitad como metronidazol y el resto como metabolitos. En cuanto a sus efectos adversos los más comunes son cefaleas, náuseas, xerostomía y un gusto metálico.

A veces surgen vómitos, diarrea y molestias abdominales. No se recomienda su uso simultáneo con alcohol, porque puede producir acumulación de acetaldehído por interferencia con la oxidación con el alcohol.

CIPROFLOXACINA

Es una Quinolona de segunda generación, perteneciente al grupo de las Fluoroquinolonas. Estos antimicrobianos ejercen un efecto bactericida por inhibición selectiva de la síntesis de ADN en la bacteria:

- Inhibiendo a la ADN – girasa, una enzima necesaria para la replicación del ADN y algunos aspectos de la transcripción, recombinación y transposición.
- Inhibiendo la relajación del ADN súper duplicado y promoviendo la ruptura del ADN doble cadena.

La vida media plasmática de la ciprofloxacina varia de 3 a 5 horas. Se absorbe adecuadamente después de ingerirla y se distribuye de manera amplia en los tejidos corporales (próstata, hueso, pulmón, tejidos blandos y líquido pleural) ⁽⁴⁴⁾ Ingerir alimentos después de los fármacos no altera su absorción. Entre sus aplicaciones terapéuticas se considera su uso en: Infecciones de las vías urinarias, enfermedades venéreas, infecciones del tubo digestivo y abdomen, infecciones de huesos, articulaciones y tejidos blandos; entre otras. Las reacciones adversas a este medicamento son bien toleradas. Los efectos adversos más comunes atribuidos a las fluoroquinolonas son los relacionados al tracto gastrointestinal, seguidos por síntomas neuropsiquiátricos y reacciones de hipersensibilidad.

La ciprofloxacina posee buena actividad contra enterobacterias como E. coli, Enterobacter, Citrobacter y Proteus. Entre los grampositivos se destaca la acción contra Staphylococcus aureus, S. epidermidis y Staphylococcus saprophyticus.

Su eficacia contra cocos grampositivos es menos que la de los betalactámicos y macrólidos. Los anaerobios Bacteroides fragilis, clostridium, peptococcus y peptosterptococcus son todos resistentes. Las quinolonas y especialmente la ciprofloxacina ha sido utilizada en infecciones periapicales refractarias al tratamiento endodóntico. ⁽⁴⁵⁾

MINOCICLINA

Antibiótico bacteriostático de amplio espectro de la familia de las tetraciclinas; actúan contra una amplia gama de bacterias grampositivos y gramnegativos anaerobias y aerobias. Son también eficaces contra algunos microorganismos resistentes a antimicrobianos activos contra la pared bacteriana. Las tetraciclinas son activas contra muchos microorganismos anaerobios y facultativos; su actividad tiene particular importancia contra *Actinomyces*.

Los tratamientos prolongados con tetraciclinas facilitan el desarrollo de cepas resistentes a estos antibióticos, en concreto bacterias grampositivos, después de cuatro semanas de tratamiento.

Actúan inhibiendo la síntesis de proteínas a través de su unión reversible con la subunidad 30S; para llegar a su sitio de acción se requiere que el antibiótico atraviese sucesivamente la membrana celular externa e interna. ⁽⁴⁵⁾ La minociclina se absorbe de forma casi completa en el tracto gastro intestinal.

En el plasma se une de forma significativa con las albuminas en un porcentaje aproximado del 80%. Su tiempo de vida media es también prolongado, de 15 a 20 horas aproximadamente.

Se elimina de forma lenta en la orina, por filtración glomerular y por vía fecal. Se indica en infecciones diversas, especialmente en infecciones de la piel y de tejidos blandos. El uso prolongado de tetraciclinas ocasiona efectos sobre huesos y tejido dentario, ya que estas se depositan especialmente en los huesos y dientes del feto, lactantes y niños hasta los ocho años. Durante la infancia la acumulación de tetraciclinas imprime a los dientes una coloración amarillenta que con el tiempo puede transformarse en marrón. ⁽⁴⁵⁾

Consecutivamente puede haber hipomineralización, y por lo tanto mayor propensión a la caries dental. Otra característica, es que estas se depositan en el esqueleto durante la gestación y la infancia, habiéndose demostrado una depresión del 40% del crecimiento óseo en los niños prematuros tratados con estos agentes. Por esta razón no se recomienda su uso en niños de hasta ocho años de edad.

MEDICAMENTOS EN REEMPLAZO DE LA MINOCICLINA

COMBINACIÓN AMOXICILINA Y ÁCIDO CLAVULÁNICO

Con la introducción de la amoxicilina en el año 1972, se fue incrementando la resistencia de algunas bacterias a este antibiótico, tanto a nivel hospitalario como fuera del mismo. Esto encaminó a los investigadores a buscar la forma de mantener vigente el antibiótico, uniéndolo a un inhibidor de las enzimas que producían la inactivación de dicho compuesto.

Surge así, la combinación de la amoxicilina y el ácido clavulánico.

FARMACOCINÉTICA DE LA COMBINACIÓN AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO

La amoxicilina es absorbida adecuadamente en el tracto gastrointestinal y presenta el nivel máximo en suero entre los 60 a 90 minutos. ⁽⁴⁶⁾⁽⁴⁷⁾⁽⁴⁸⁾⁽⁴⁹⁾

Aproximadamente el 90% de la dosis oral administrada se absorbe determinando un nivel pico en suero, el cual es directamente proporcional a la dosis administrada. El ácido clavulánico también es absorbido adecuadamente en el tracto gastrointestinal y presenta los niveles máximos en suero entre los 40 a 120 minutos. ⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾

Cuando ambas drogas son administradas juntas presentan concentraciones séricas eficaces y tienen una vida media dentro del mismo rango reportado cuando cada una es administrada separadamente. ⁽⁴⁹⁾ En un estudio realizado por Witkowsky, (1982), se determinó que las cinéticas de la amoxicilina y el clavulanato potásico son habitualmente las mismas tras la administración de ambos compuestos individuales o en combinación. ⁽⁵¹⁾

La absorción de la amoxicilina y del ácido clavulánico en los adultos no es afectada por la administración simultánea de alimentos, leche o antiácidos. ⁽⁴⁹⁾⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾ Los desórdenes gastrointestinales pueden alterar la farmacocinética de ambas drogas, por ejemplo en enfermedades celíacas, y en los pacientes que sufren de vagotomía se ha reportado disminución de la absorción de la amoxicilina. ⁽⁵¹⁾

En cuanto al metabolismo y excreción, la amoxicilina es excretada a través de la orina, después de una dosis oral, el porcentaje de excreción renal a las 6 horas es de 50-85% y para el ácido clavulánico es de 20-60%. ⁽⁵³⁾ Luego de la administración de amoxicilina/ ácido clavulánico, las concentraciones urinarias de amoxicilina pueden ser 10 veces superiores a las obtenidas, al suministrar amoxicilina sola, debido al efecto protector del ácido clavulánico contra la acción destructora de las betalactamasas. ⁽⁵⁴⁾ Todas estas investigaciones confirman una farmacocinética favorable para la asociación amoxicilina/ácido clavulánico con los siguientes resultados:

Presenta una tasa de absorción elevada no influenciada por la presencia de alimentos. El ácido clavulánico en asociación con la amoxicilina no modifica las cualidades de ésta con respecto a su absorción, ni biodisponibilidad. Biodisponibilidad resultante: amoxicilina, 96%, ácido clavulánico, 70%. débil unión protéica: amoxicilina, 17%, ácido clavulánico, 22%.

Los parámetros farmacocinéticos de los dos componentes de la asociación amoxicilina/ácido clavulánico (instante de pico sérico, volumen de distribución, biodisponibilidad, tasa de eliminación) se comportan de manera similar. Excelente difusión en los tejidos y líquidos orgánicos. ⁽⁵⁴⁾

HIDRÓXIDO DE CALCIO

El hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ representa un auxiliar precioso de la terapéutica endodóntica, se utiliza en diversas situaciones clínicas por su poder antiséptico y su propiedad de estimular o crear condiciones favorables para la reparación hística. Introducido para su uso en endodoncia por B.W. Herman (1920), el hidróxido de calcio es un polvo blanco, alcalino, poco soluble en agua (1.7 g/l). Sus propiedades que lo llevaron a hacer ampliamente utilizado en endodoncia, se relacionan en gran medida con su disociación en iones calcio e hidroxilo.

Para usarlo como medicación temporaria entre sesiones, el hidróxido de calcio se mezcla con un vehículo, preferentemente acuoso o hidrofílico (agua estéril, solución fisiológica, propilenglicol, polietilenglicol, entre otros), para conformar una suspensión con pH aproximado de 12,4. Aunque se propone otros vehículos para mezclarlos con el polvo, la presencia de agua es fundamental para que se produzca la disociación iónica antedicha. En una suspensión acuosa, a 15 °C, la disociación de apenas 0,17% del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es suficiente para producir el pH elevado de 12.4. Así, en una pasta de este fármaco habrá abundante disponibilidad de iones calcio e hidróxido, capaces de sustentar su acción por periodos prolongados.

El tratamiento de dientes con pulpa mortificada, la indicación para el uso de hidróxido de calcio como medicación temporaria entre sesiones se funda en su acción antiséptica reconocida .resultante de su pH elevado. Al colocarse en el interior del conducto radicular – en contacto directo con las paredes dentinarias – se produce en presencia de agua la ionización del hidróxido de calcio y por consiguiente, la alcalinización del medio. Al llegar al interior de los túbulos dentinarios, los iones hidroxilo modifican el pH de la dentina, lo que provoca la destrucción de la membrana celular de las bacterias y de sus estructuras proteicas. La interacción del pH de la masa dentinaria torna inadecuado el medio para la supervivencia de la mayoría de los microorganismos de la flora endodóntica. En estudios recientes se demostró que el hidróxido de calcio actúa sobre las endotoxinas bacterianas; hidroliza la porción lipídica del liposacárido bacteriano (LPS), presente en la pared celular de las bacterias anaeróbicas gram negativas y neutraliza su acción estimulante sobre el proceso de reabsorción del tejido óseo.

Hasta el momento no hay evidencia concluyente de que la pasta del hidróxido de calcio, usada en el interior del conducto radicular, intervenga en forma directa en la neoformación tisular necesaria para la reparación de los tejidos periapicales. Su acción en el proceso de reparación de esos tejidos se relacionaría con su capacidad para eliminar los microorganismos y crear un ambiente con condiciones propicias para la reparación, lo que no ocurre en presencia de contaminación. ⁽⁵⁵⁾

2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

DENTICIÓN DECIDUA

El término de diente deciduo procede de la palabra latina deciduus, que significa caer, denominándose también a estos dientes, dientes temporales, dientes caducos y dientes de leche. ⁽⁷⁾

CARIES DENTAL

La caries dental es una enfermedad crónica, infecciosa, multifactorial y transmisible que afecta los tejidos duros del diente. Es producida por la acción de bacterias acidógenas y acidúricas, las cuales degradan hidratos de carbono de la dieta y producen ácidos como resultado final de su metabolismo. ⁽¹³⁾

PULPECTOMÍA

Es una terapia pulpar en la dentición decidua. Es una alternativa de tratamiento muy importante para lograr la preservación de la salud bucal en los niños, cuyo objetivo es la reducción de la población bacteriana en la pulpa contaminada; es decir limpiar el conducto para luego colocar un material de obturación en la raíz y que sea al mismo tiempo reabsorbible, antiséptico y no irritante para los tejidos adyacentes ni el germen del diente permanente. ⁽¹⁴⁾

NECROSIS PULPAR

Significa muerte de la pulpa, resulta de una pulpitis irreversible no tratada, una lesión traumática o cualquier suceso que cause una interrupción prolongada del aporte sanguíneo a la pulpa. ⁽⁷⁾

PASTA DE HOSHINO O 3Mix

Combinación de componentes antibióticos (metronidazol, ciprofloxacina y minociclina) utilizados como alternativa para tratamientos en piezas con necrosis pulpar, debido a que tiene la capacidad de eliminar las bacterias presentes, por su alto poder bactericida. ⁽⁶⁾

METRONIDAZOL: medicamento antiinfeccioso de la familia de los nitroimidazoles que está indicado en las infecciones por bacterias anaerobias responsables de abscesos cerebrales y hepáticos, colitis pseudomembranosa, endocarditis bacteriana, infecciones cutáneas y de tejidos blandos. También tiene acción amebicida y tricomonicida. ⁽⁶⁾

CIPROFLOXACINO: medicamento antimicrobiano bactericida de la familia de las fluoroquinolonas. Se utiliza en el tratamiento de las infecciones de la piel y de los tejidos blandos, genitourinarios y urinarios, neumonías, septicemia, osteomielitis y en la fibrosis quística. ⁽⁶⁾

MINOCICLINA: medicamento antimicrobiano bacteriostático de la familia de las tetraciclinas que se utiliza en el tratamiento del acné infecciones cutáneas, bronquitis, otitis, faringitis. ⁽⁶⁾

AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO: La amoxicilina pertenece a una clase de antibióticos llamados medicamentos similares a la penicilina. Funciona al detener el crecimiento de las bacterias. El ácido clavulánico pertenece a una clase de medicamentos llamados inhibidores de beta-lactamasa. Funciona al evitar que las bacterias destruyan la amoxicilina. ⁽⁶⁾

HIDRÓXIDO DE CALCIO: medicamento más utilizado como medicación intrarradiculares, tanto entre las sesiones como durante períodos largos de tiempo. Indicado en el control y tratamiento de las reabsorciones radiculares, apicogénesis e inducción de cierre apical, tanto en dientes con o sin vitalidad y, que presenten o no lesión apical. ⁽⁹⁾

CAPITULO III

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se realizó la prueba de susceptibilidad en las dos bacterias mencionadas Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM 90) establecidas por el CLSI® que se empleó para la preparación de las soluciones antibióticas tuvieron que ser reajustadas como menciona y realiza en la investigación de Quispe ⁽²⁵⁾ cuyos valores son utilizados para la presente investigación.

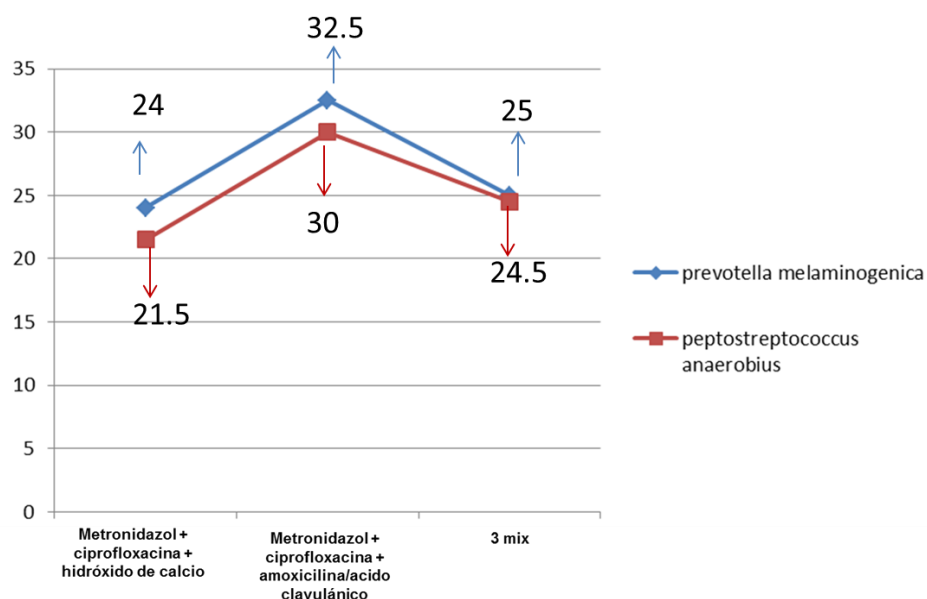
TABLA N°1: PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LAS COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIÁNDOLOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Prevotella melaninogenica* y *Peptostreptococcus anaerobius*.

SOLUCIÓN	PREVOTELLA MELAMINOGENICA	PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS
GRUPO EXPERIMENTAL		
Ciprofloxacino +metronidazol+ hidróxido de calcio	24	21.5
Ciprofloxacino +metronidazol +amoxicilina/ácido clavulánico	32.5	30
GRUPO CONTROL		
3 mix	25	24.5

Fuente: Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud – Bachiller: Luis Alfredo Gómez Ramos

Presenta los promedios de diámetros de halos de inhibición sobre *Prevotella melaninogenica* y *Peptostreptococcus anaerobius*. Se observa en la tabla que la combinación de principio activo del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico tuvo mayor promedio de halos de inhibición en las dos bacterias mencionadas, seguido de la 3 mix y la combinación de principio activo del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio del cual tuvo menor promedio de diámetro de halos de inhibición.

GRAFICO N°1: PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LAS COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIÁNDOLOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Prevotella melaninogenica* y *Peptostreptococcus anaerobius*.



Fuente: laboratorio Central de la facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud –Bachiller: Luis Alfredo Gómez Ramos

TABLA N°2: PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LAS COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIADO CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Prevotella melaninogenica*.

SOLUCIÓN	PREVOTELLA MELAMINOGENICA	
	PLACA 1 (mm)	PLACA 2 (mm)
GRUPO EXPERIMENTAL		
Ciprofloxacino +metronidazol+ hidróxido de calcio	23	25
Ciprofloxacino +metronidazol +amoxicilina/ácido clavulánico	35	30
GRUPO CONTROL		
3 mix	25	25

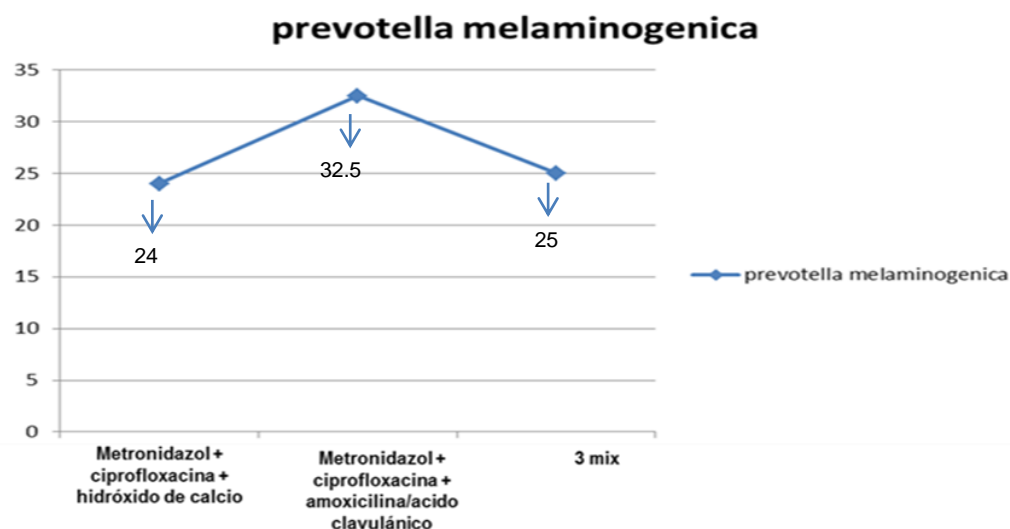
Fuente: Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud – Bachiller: Luis Alfredo Gómez Ramos.

Solución	Promedio	Mediana	Moda	Desv.Est	varianza
GRUPO EXPERIMENTAL					
Ciprofloxacino + metronidazol+hidróxido de calcio	24	24	-	1.41	2
Ciprofloxacino + metronidazol+amoxicilina/ácido clavulánico	32.5	32.5	-	3.54	12.5
GRUPO CONTROL					
3 mix	25	25	25	0	0

Fuente: Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud – Bachiller: Luis Alfredo Gómez Ramos

Los mayores promedios de diámetro de halos de inhibición están dados por la solución de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico (32.5 mm). así como también su desviación estándar (3.54) y varianza (12.5). Se realizó la prueba estadística Anova One –Way considerando los dos grupos de combinaciones de soluciones antibióticas experimentales y la combinación de la solución del grupo control obteniendo como resultado un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). la prueba T de Student realizadas dieron los siguientes resultados: combinación del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico - 3 Mix < 0.05 (estadísticamente significativo), combinación del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio-3 Mix > 0.05 (estadísticamente no significativo)

GRÁFICO N°2: PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LAS COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIÁNDOLOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Prevotella melaninogenica*.



Fuente: Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud – Bachiller: Luis Alfredo Gómez Ramos.

TABLA N°3: PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LAS COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIÁNDOLOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Peptostreptococcus anaerobius*

SOLUCIÓN	PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS	
	PLACA 1 (mm)	PLACA 2 (mm)
GRUPO EXPERIMENTAL		
Ciprofloxacino +metronidazol+ hidróxido de calcio	20	23
Ciprofloxacino +metronidazol +amoxicilina/ácido clavulánico	30	30
GRUPO CONTROL		
3 mix	25	24

Fuente: Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud – Bachiller: Luis Alfredo Gómez Ramos

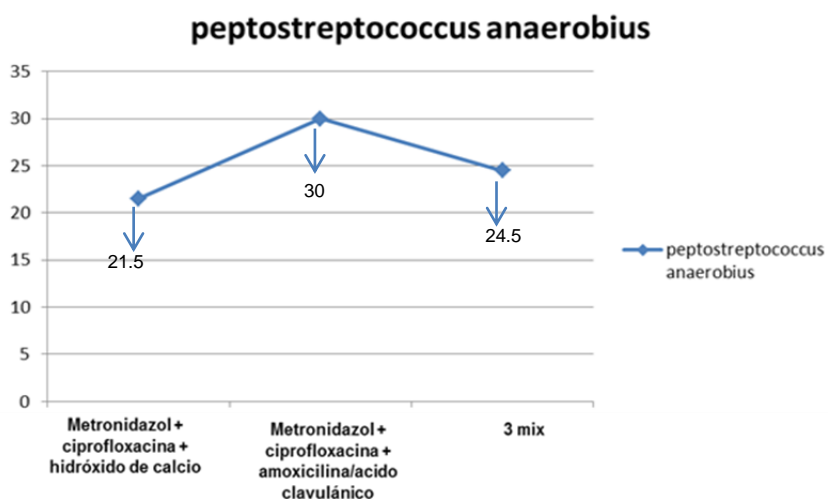
Solución	Promedio	Mediana	Moda	Des. Est	varianza
GRUPO EXPERIMENTAL					
Ciprofloxacino + metronidazol+ hidróxido de calcio	21.5	21.5	-	2.12	4.5
Ciprofloxacino+ metronidazol+ amoxicilina/ácido clavulánico	30	30	30	0	0
GRUPO CONTROL					
3 mix	24.5	24.5	-	0.70	0.5

Fuente: Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud – Bachiller: Luis Alfredo Gómez Ramos

Los mayores promedios de diámetro de halos de inhibición están dados por la solución de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico (30 mm). La combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio obtuvo el mayor valor de la desviación estándar (2.12) y varianza (4.5).

Se realizó la prueba estadística Anova One –Way considerando los dos grupos de combinaciones de soluciones antibióticas experimentales y la combinación de la solución del grupo control obteniendo como resultado un valor $p < 0.05$ (estadísticamente significativo). La prueba T de Student realizadas dieron los siguientes resultados: combinación del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico - 3 Mix < 0.05 (estadísticamente significativo), combinación del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio - 3 Mix > 0.05 (estadísticamente no significativo)

GRÁFICO N°3: PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LAS COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIÁNDOLOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Peptostreptococcus anaerobius*.



Fuente: Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud – Bachiller: Luis Alfredo Gómez Ramos

DISCUSIÓN

Los antibióticos locales utilizados por separado o más comúnmente en combinaciones fueron utilizados en el tratamiento de las infecciones endodónticas en toda la historia de los antibióticos. ⁽¹⁾⁽²⁾ Para que un antibiótico sistémico actúe sobre las bacterias tiene que ser llevado por la circulación de la sangre en el espacio de la pulpa y entrar en contacto directo con las bacterias. Por lo tanto en una pulpa infectada o necrótica debido a la falta de suministro de sangre, los antibióticos tópicos pueden ser eficaces en un espacio pulpar muy limitada y restringida. ⁽³⁾

En la actualidad aparecen nuevos relatos sobre la efectividad tanto in vitro como in vivo de nuevas combinaciones de antibióticos, ⁽⁴⁾⁽⁵⁾ como es el caso de la 3 mix ⁽⁶⁾ conformado por metronidazol, ciprofloxacino y minociclina, como una manera novedosa de tratar las piezas deciduas necróticas indicadas para tratamientos de pulpectomía. como medicación intraconducto en caso de retratamientos en dientes permanentes ⁽³⁾ , así como también en dientes con ápice incompleto que en la actualidad, se está considerando como un adyuvante de gran valor para los procedimientos de revascularización pulpar. ⁽⁷⁾ Su uso se basa en el hecho de que la microflora del conducto radicular consiste en gran parte de anaerobios estrictos, por lo que es necesaria la utilización de medicamentos que actúen sobre cada uno de los microorganismos presentes. ⁽⁵⁾⁽⁸⁾

Sin embargo un problema potencial de esta pasta antibiótica intraconducto es que puede producir resistencia bacteriana. Además, el uso de minociclina intraconducto puede cambiar la coloración de los dientes, con potenciales complicaciones cosméticas. ⁽⁷⁾

Khemaleelakul y cols. Demostraron los efectos de diferentes antibióticos sobre bacterias obtenidas de abscesos endodónticos agudos, utilizando tanto el método de cultivo, como el de secuenciación de ADN, mostrando que el Augmentin compuesto por amoxicilina/ácido clavulánico por sí solo es eficaz contra todas las bacterias facultativas y anaeróbicas presentes. ⁽¹⁸⁾ en la presente investigación se confirma su efectividad asociado con el metronidazol con ciprofloxacino observándose amplios halos de inhibición sobre bacterias prevalentes en necrosis pulpar (*Prevotella melaninogenica*, *Peptostreptococcus anaerobius*).

En la presente investigación se utilizó al hidróxido de calcio, que es el medicamento más utilizado como medicación intrarradiculares entre sesiones como durante periodos largos de tiempo. Indicado en el control y tratamiento de las reabsorciones radiculares, apicogénesis e inducción de cierre apical, tanto en dientes con o sin vitalidad y en este caso, que presenten o no lesión apical. ⁽⁹⁾ sin embargo se demostró que asociándolo con metronidazol con ciprofloxacina mostró menor efectividad antimicrobiana, esto es debido a que no es un antibiótico y además se utilizó en menor cantidad, pero, no se descarta su utilización.

Para la prueba de susceptibilidad a la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacina asociándolo con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico se empleó el método de Disco Difusión de Kirby-Bauer, a diferencia de las investigaciones previas a Sato ⁽⁵⁾ y Hoshino ⁽⁶⁾ quienes emplearon el método de dilución en Agar.

Se decidió emplear el método de disco –difusión de Kirby- Bauer con el objetivo de determinar cuantitativamente la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de principios activos del metronidazol con ciprofloxacina asociándolo con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico. Tachau ⁽⁶⁵⁾ uso el método de difusión en agar para comparar la efectividad de 10 materiales de obturación usados en tratamiento de pulpectomía. Gálvez y Mendoza ⁽⁶⁶⁾ utilizaron este mismo método para probar la capacidad bactericida de pastas experimentales en bacterias anaerobias estrictas y facultativas.

En la investigación de Quispe ⁽²⁵⁾ evalúa la actividad antibacteriana de la combinación de drogas 3Mix, formada por Metronidazol, Ciprofloxacina y Minociclina, contra microorganismos anaerobios estrictos y facultativos prevalentes en conductos radiculares de piezas deciduas con necrosis pulpar, utilizando seis cepas ATCCR de bacterias anaerobias estrictas y facultativas para probar la susceptibilidad a la combinación de Drogas 3Mix y sus componentes mediante el Método de Disco Difusión Kirby – Bauer en medio anaerobio. Observando amplios halos de inhibición en todas las bacterias. La mayor actividad antibacteriana fue producida por la solución de Metronidazol seguida por la combinación de Drogas 3Mix, Minociclina y Ciprofloxacina el cual mostró el menor efecto antimicrobiano. En la presente investigación se realizó el mismo método, obteniendo resultados similares con respecto a las combinaciones de antibióticos. Sin embargo no se puede comparar debido a que solo se ha obtenido resultados de los medicamentos de manera individual cosa que en la presente investigación el resultado fue combinándolos lo medicamentos de la 3 mix reemplazando a la minociclina por hidróxido de calcio y por amoxicilina/ácido clavulánico.

CONCLUSIÓN

PRIMERA CONCLUSIÓN: Se encontraron diferencias significativas entre la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico en comparación de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio sobre bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar, lo que demuestra que la asociación con amoxicilina/ácido clavulánico puede ser un candidato para reemplazar a la minociclina.

SEGUNDA CONCLUSIÓN: Existe influencia significativa de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico sobre bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar, presentando una mayor efectividad antimicrobiana, obteniendo halos de inhibición de 32.5 mm sobre *Prevotella melaninogenica* y 30 mm sobre *Peptostreptococcus anaerobius*.

TERCERA CONCLUSIÓN: No existe influencia significativa de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio sobre bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar presentando menor efectividad antimicrobiana, obteniendo un halo de inhibición de 24 mm sobre *Prevotella melaninogenica* y 21.5mm sobre *Peptostreptococcus anaerobius*.

RECOMENDACIONES

PRIMERA RECOMENDACIÓN: Con respecto a la determinación del efecto antimicrobiano de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico sobre bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar, se recomienda tomar en cuentas los resultados para saber utilizar en tratamiento de necrosis pulpar, como medicación intraconducto en caso de retratamiento, así como también en dientes permanentes inmaduros que en la actualidad, se está considerando como un adyuvante de gran valor para los procedimientos de revascularización pulpar.

SEGUNDA RECOMENDACIÓN: Con respecto a la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico se recomienda tomar en cuenta los resultados, para utilizar en procedimientos clínicos en pacientes con lesiones endodónticas complejas lográndose reducir el tiempo del tratamiento y utilizarlo en los hospitales ya que se encuentran dentro del petitorio nacional.

TERCERA RECOMENDACIÓN: Con respecto a la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio, se recomienda tomar en cuenta los resultados, para que no sea utilizado en casos clínicos de gran complejidad, pero no se descarta su utilización ya que solo se utilizó una cantidad mínima (1mg). Esto es debido a que el hidróxido de calcio aplicado directamente sobre la pulpa produce necrosis en la capa superficial, debajo de la cual se inicia el proceso de reparación por ello se debería realizar estudios histológicos, para determinar si ese valor es el indicado para utilizarlo como medicación intraconducto.

CUARTA RECOMENDACIÓN: Al comparar el efecto antimicrobiano de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolo con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico, se utilizó valores mínimos utilizando una balanza analítica de precisión , para contribuir a la realización de un protocolo universal que determine la cantidad exacta para reducir o erradicar las bacterias del interior del conducto .así como también en la utilización en dientes con ápice no formado para evitar lesionar a las células madres que son las que culminarán con el desarrollo del diente. Por ello se recomienda realizar estudios histológicos para determinar si ese valor es el indicado para utilizarlo como medicación intraconducto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Bender IB, Setzers.** Combinations of antibiotics and fungicides used in Treatment of the infected pulpless tooth. Journal of the American Dental Association 1952; 45:293-300.
2. **Grossman LI.** Polyantibiotic treatment of pulpless teeth. Journal of the American Dental Associations 1952;43:265278.
3. **Varalakshmi R Parasuraman, Banker Sharadchandra Muljibhai.** 3 Mix – MP in endodontics- An overview. Journal of Dental and Medical Sciences (JDMS) ISSN: 2279-0853,ISBN;2279-0861.Volume 3, Issue 1 (Nov-Dec.2012)
4. **Molander A,Reit C,Dahlen G.** Microbiological evaluation of clindamycin as a root canal dressing in teeth with apical periodontitis Endod JI 1990;23:113-118.
5. **Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E.** Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. International Endodontic Journal 1996 Mar; 29 (2):118-24
6. **Hoshino E. ,Ando Kurihara N, Sato I,Vematsu H, Sato M , Kotak ,Iwaku M.** In vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected rott dentine to mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. Int.Endod 1996;29:125-130
7. **Cohen Stephen, Kenneth M. H.** Vías de la pulpa. Décima edición Madrid, Ed Elsevier Science 2011 pg. 809-832
8. **Yassem G, Vail M,Chut,Platts JA.**The effect of medicaments used in Endodontic regeneration on root fracture and microhardness of radicular dentine.Int Endod J. 2013;46:688-695
9. **Manoel Eduardo de Lima Machado.** Endodoncia de la biología a la técnica. Ed Amolca 2009 pg. 299-231

10. **Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR.** The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentine biofilms in vitro. *J Endod* 2006; 32:434-7
11. **Bergenholtz G.** Pathogenic mechanisms in pulpal disease. *J Endod* 1990; 16:98-101
12. **Jontell M, Gunray MN, Bergenholtz G.** Immunocompetent cells in the normal dental pulp *J Dent Res.* 1987;66:1149-1153
13. **Liébana Ureña, José.** *Microbiología Oral.* Editorial Mc. Graw Hill. Primera Edición. Madrid. España. 1995.
14. **Villena Hernán M.** *Endodoncia pediátrica.* Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2005 pg.140-172.
15. **Bowles Wh, Bokmeyer T** Staining of adult teeth by minocycline: binding of minocycline by specific proteins. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 1997, 9(1):30-34
16. **Trope M.** Treatment of immature teeth with non-vital pulps and apical periodontitis *endodontic topics* 2006; 59:51-59
17. **Nagata J, Gomes B, Rocha t, Murakami L, de Faira D, Campos G et al.** Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. *J Endod.* 2014; 40:606-612
18. **Khemaleelakul S, Baumgartner J, Pruksakorn S.** Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. *Oral Surge Oral Med Oral Pathol Oral Radial Endod* 2002; 94:746-755
19. **Sato T.** et. al. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs on bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. *Oral Microbiol Immunol*, vol 8. Nº 3. p 172-176, junio 1993.
20. **Cruz E.V.** et al. Penetration of Propylene glycol into dentine. *International Endodontic Journal*, vol. 34, Nº 4, p. 330, 2002
21. **Windley, W. Et Al.** Desinfection of Immature Teeth with a Triple Antibiotic paste. *Journal of Endodontics*, vol. 31, No 6, p. 439-443, 2005

22. **T. Takushige, E. Hoshino.** Clinical Evaluation of LSTR 3Mix-MP Therapy for perforated Roots. Niigata Univ. Niigata. Japón. 2001.
<http://iadr.confex.com/iadr/2001chiba/scheduler/schedulerpaper.cgi?abstract=4345>
23. **Bowles Wh, Bokmeyer** :Protection against minocycline pigment formation by ascorbic acid (vitamin C) .Journal of Esthetic and Restorative dentistry 1998;10(4):182-186
24. **Hoshino E.** et. al. Susceptibility of Enterococcus faecalis to a Combination of Antibacterial Drugs (3Mix) in Vitro. J. Oral Biosci, vol 47, N° 4, p. 315 – 320, 2005
25. **Quispe Salcedo A.** “Evaluación del efecto antibacteriano de la combinación de drogas 3 mix en bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar”. Trabajo de Investigación para optar al título de cirujano dentista. Facultad odontología. Universidad Nacional Mayor De San Marcos-Perú. 2007.
26. **Hoescher Aa, Bahcall Jk, Maki Js.** In vitro evaluation of the antimicrobial effects of a root canal-sealer-antibiotic combination against enterococcus faecalis. J Endod 2006; 32:145-147
27. **Nosrat A. Li KI , Vir K , Hicks MI, Fouad Af** ,Is pulp regeneration necessary for root maturation? J endod . 2013 Oct; 39 (10) :129 -5
28. **Iwaya S Ikawa M, Kubota M,** Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. Dent Traumatol . 2001 Aug;17 (4):185-7.
29. **Carreira Cm ,Santos Ssf ,Jorge Aoc ,Lage- Marques JI.** Antimicrobial effect of intracanal substances .J Appl Oral Sci 2007 ,15(5) :453-8
30. **Muñante Cardenas, José Luís.** Identificación de Microorganismos anaerobios estrictos y facultativos frecuentes en necrosis pulpares. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Lima. Perú. 2005.
31. **Leonardo ML, Simoes F.** Endodoncia. Buenos Aires: Panamericana; 1974

32. **Former NL, Rodríguez-Ponce A.** Patología Pulpo-Periapical. En: Endodoncia consideraciones Actuales, Caracas: Actualidades Medico Odontológicas Latinoamericano 2003.pg 207-219
33. **Grossman LI** .Practica Endodóntica 4ta Ed. Buenos Aires: Mundi 1981
34. **Marshall FJ:** Planificación del tratamiento endodóntico. Clínicos Odontológicos de Norteamérica 1979; 4:491-514
35. **Pumarola J. Canaldo C.** Patologia de la pulpa y del periápice .En: canalda C, Brau E.Endodonci. Masson 2001. Citado por Alvarado AM. Patologia Endodoncia- perirradicular y su diagnóstico. Odontoinvitado 2002 [citado 2007 ene 18]. Se consigue en URL: http://www.carlosbóveda.com/odontologofolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_25.htm
36. **Bhaskar S N.** Oral Surgery .oral pathology conference No.17, Walter Reed Army Medical Center. Periapical lesions – types, incidence, and clinical features. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1966; 21 (5); 657-71.
37. **Bhaskar S N.** Nonsurgical resolution of radicular cyts.Oral Surg Oral Med Pathol 1972; 34(3):458-68
38. **Bender I B.** A commentary on General Bhaskar S N hypothesis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1972; 34(3):469-76.
39. **Nair P, Schmid – Meier E.** An apical granuloma with epithelial integument Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1986; 62(6):698-703.
40. **Nair P.** Pathology of apical periodontitis. En: Orstavik D; Pitt Ford TR, Essential Endodontology – Blackwell Science; 1994. pg. 68-105.
41. **Canalda Sahli, Carlos; Breu Aguade, E.** Endodoncia. Técnicas Clínicas y Bases Científicas. Primera Edición. Editorial Masson. Barcelona. España. 2001.
42. **Nakahara H.** et. al. Clinical Evaluation of LSTR 3Mix-MP Endodontic Treatment. Niigata University, Japón, 2005. http://iadr.confex.com/iadr/2005Balt/techprogram/abstract_60499.htm

43. **Takushige T. et. al.** Clinical Evaluation of Endodontic Re- Treatment Using LSTR 3 Mix – MP. Niigata University. Japón, 2007.http://iadr.confex.com/iadr/2007orleans/techprogram/abstract_91540.htm.
44. **Orslavick, D.** Antibacterial properties of root canal sealer, cements and pastes. International Endodontic Journal, No14, p. 125-33, 1981
45. **Allen, K. R.** Endodontic treatment of primary teeth. Aust. Dent. Journal. North Sydney, vol. 24, No5, p. 357-351, Octobers 1979.
46. **Neu H, Wilson A, Gruneberg R.N:** Amoxycillin/clavulanic acid: a review of its efficacy in over 38,500 patients from 1979 to 1992. J Chemotherapy. 1993; 2: 67-93.
47. **Adam D, Visser I, Koeppe P:** Pharmacokinetic of amoxicillin and clavulanic acid administered alone and in combination. Antimicrob Agents Chemother 1982; 22:353-7.
48. **Gordon R, Ragamey C, Kirby W:** Comparative clinical pharmacology of amoxicillin and ampicillin administered orally. Antimicrob Agents Chemother. 1972; 1:504-7.
49. **Saito A:** The pharmacokinetics of BRL 25000- Augmentin in humans. In: Leigh DA, Robinson OPW. eds. Proceedings of an International Symposium on Augmentin (BRL 25000). Montreux, 1981. Amsterdam : Excerpta Medica. 1982; 34-46.
50. **Munch R, Luthy R, Blaser J, Siegenthaler W:** Clavulanic acid: human pharmacokinetics and CSF penetration (abstract 307). In: Program and Abstracts of the 19th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Boston. 1979.
51. **Witkowsky G:** Eur. J Clin Microb. 1982; 4: 233-237. En: Fulgram. Información Científica. Laboratorios Leti. Caracas. 1988.
52. **Staniforth D, Lillystone R, Jackson D:** Effect of food on the bioavailability and tolerance of clavulanic acid/Amoxycillin combination. J. Antimic. Chemother. 1982; 10 (2): 131-139.

53. **Haginaka J, Nagakawa T, Nishino Y, Uno T:** High performance liquid chromatographic determination of clavulanic acid in human urine. *J Antibiotics*. 1981; 34: 1189-94.
54. **Salazar E, Perrone M:** Evaluación clínica de la combinación Amoxicilina/Ácido Clavulánico en diferentes procesos infecciosos de la cavidad bucal. *Acta Odont Vzlana* 1995; 33(2): 7-13.
55. **Soares Ilson, José; Goldberg, Fernando.** Endodoncia. Técnica y Fundamentos. Primera Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 2003.
56. **Dalby Morla, María Paola.** Sensibilidad antibiótica de las bacterias más prevalentes en abscesos dentoalveolares agudos. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Lima. Perú. 2005
57. **Williams B.L, Osterberg S.** et al Subgingival microflora of periodontal patients of tetracycline therapy. *Journal of clinical Periodontology*, vol. 6(4), pg. 210-221, 1979.
58. University of Pennsylvania medical center Guidelines for Antibiotic Use. Antimicrobial Susceptibilities of Obligately Anaerobic Bacteria Performed 11/06 on Bacterial Isolates Collected from 2003–2006. http://www.uphs.upenn.edu/bugdrug/antibiotic_manual/susceptibility/anaerobe_06.htm.
59. **Jacinto R.C Gomes F.A;** et al Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis *Oral Microbial Immunol*, N°18 pg. 285-292, 2003.
60. **Galkin D. Krettchikova O.** et al Antimicrobial Susceptibility of Gram Negative Anaerobic Bacteria from 2 Hospitals in Smolensk, Russia. Poster 1633 Institute of Antimicrobial Chemotherapy (IAC) of the Smolensk. State medical Academy .Smolensk Russia. 2005 http://www.antibiotic.ru/files/pdf/en/eccnid16_p1633.pdf.

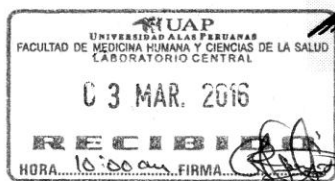
61. **Litterio M, Biamchinni G.** et al Actividad in vitro de 10 antimicrobianos frente a bacterias anaerobias. Estudio multicentrico, 1999-2002. Revista Argentina de Microbiología, N°36:130-135,2004.
62. **Lama Ma,Ribeiro- Sobrinho A.P.** et al microorganism isolated from root canal presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro oral microbial Imminol,N°16 pg. 100-105,2001.
63. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Susceptibility testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard – Seventh Edition. CLSI document M11 – A7. Clinical and laboratory Standards Institute.2007.
64. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement. NCCLS document M100 – S14. 2004
65. **TACHAU WEN – SHIUN** et al. In vitro inhibition of bacteria from root canals of primary teeth by various dental materials. Pediatric dentistry, vol. 17, No 5, 1995.
66. **GALVEZ C., MENDOZA R.** Capacidad bactericida de Pastas experimentales Anti- A. Estudio In Vitro. Revista Odontología Sanmarquina, vol. 1, No 7, Enero – Junio, 2001.

“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIÁNDOLOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO COMO REEMPLAZO A LA MINOCICLINA, EN BACTERIAS ANAEROBIAS PREVALENTES EN NECROSIS PULPAR”

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADOR	METODOLOGÍA
<p>PROBLEMA GENERAL</p> <p>¿En la evaluación de la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociándolos con hidróxido de calcio o amoxicilina/ácido clavulánico, Cuál de ellos tiene el mayor efecto antimicrobiano frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar?</p> <p>PROBLEMAS SECUNDARIOS</p> <p>¿Cuál es la efectividad antimicrobiana de la combinación de principios activos del Metronidazol con Ciprofloxacino asociado con Hidróxido de calcio frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar?</p> <p>¿Cuál es la efectividad antimicrobiana de la combinación de principios activos del Metronidazol con Ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <p>Comparar la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de los principios activos del metronidazol con ciprofloxacino, asociándolos con hidróxido de calcio, o amoxicilina/ácido clavulánico frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar</p> <p>OBJETIVOS ESPECIFICOS</p> <p>Determinar la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de los principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar.</p> <p>Determinar la efectividad antimicrobiana de las combinaciones de los principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar</p>	<p>HIPOTESIS GENERAL</p> <p>La combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico tiene mayor efectividad antimicrobiana frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar que , la combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio.</p> <p>HIPOTESIS SECUNDARIAS</p> <p>H1.La combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con hidróxido de calcio no sería significativa frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar</p> <p>H2.La combinación de principios activos del metronidazol con ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico sería significativa frente a bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar</p>	<p>VARIABLE DEPENDIENTE Efectividad antimicrobiana</p> <p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Grupo experimental</p> <p>Combinación de principios activos del Metronidazol con Ciprofloxacino asociado con Hidróxido de calcio.</p> <p>Combinación de principios activos del Metronidazol con Ciprofloxacino asociado con amoxicilina/ácido clavulánico.</p> <p>Grupo control</p> <p>3 Mix:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ciprofloxacino ▪ Metronidazol ▪ minociclina 	<p>DISEÑO DE INVESTIGACION Experimental.</p> <p>TIPO DE INVESTIGACION</p> <p>Prospectivo In vitro</p> <p>NIVEL DE INVESTIGACIÓN</p> <p>Cuantitativo</p> <p>POBLACION y MUESTRA</p> <p>Universo</p> <p>Bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar</p> <p>Muestra</p> <p>Considerando que una necrosis pulpar es producto de una infección polibacteriana y teniendo en cuenta que la literatura refiere una mayor prevalencia de microorganismos anaerobios, se consideró 2 de los principales géneros anaerobios causantes de esta patología</p> <p>- <i>Peptostreptococcus anaerobius</i></p> <p>- <i>Prevotella melaninogenica</i></p>

ANEXO N°2

SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



Pueblo Libre, 5 de Febrero del 2015

Dra. CARMEN AQUIJE BAPOZZO
Jefa De Laboratorio de la UAP

De mi consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted para expresarle mi respetuoso saludo y al mismo tiempo presentarle a el Bachiller **LUIS ALFREDO, GOMEZ RAMOS** con código **2009145605**, de la Escuela Profesional de Estomatología - Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud -Universidad Alas Peruanas, quien necesita recoger información en la el área que usted dirige y que pueda usted permitir realizar el trabajo de investigación (tesis).

TÍTULO: "EVALUACION DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO ASOCIANDOLOS CON HIDROXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ACIDO CLAVULANICO, COMO REEMPLAZOS A LA MINOCICLINA, EN BACTERIAS ANAEROBICAS PREVALENTES EN NECROSIS PULPAR"

A efectos de que tenga usted a bien brindarle las facilidades del caso.

Anticipo a usted mi profundo agradecimiento por la generosa atención que brinde a la presente.

Atentamente,



UAP UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
Dra. MIRIAM DEL ROSARIO VASQUEZ SEGURA
DIRECTORA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

ANEXO N° 3

CERTIFICACIÓN DEL LABORATORIO CENTRAL DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS



La que suscribe Mg. Carmen Aquije Dapozzo Coordinadora del Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas ,Certifica que el Sr. Luis Alfredo Gómez Ramos Bachiller de la Carrera Profesional de Estomatología, realizó la parte experimental de su trabajo de investigación titulado: "EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL METRONIDAZOL CON CIPROFLOXACINO A SOCIÁNDOLOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO O AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO COMO REEMPLAZOS A LA MINOCICLINA EN BACTERIAS ANAEROBIAS PREVALENTES EN NECROSIS PULPAR" en las instalaciones de nuestro laboratorio desde el 21 de Marzo hasta el 28 de Marzo del 2016.

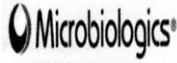
Se expide la presente certificación para los fines pertinentes

Atentamente



Mg. Carmen Aquije Dapozzo
JEFE DEL LABORATORIO CENTRAL
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

**ANEXO N°4
CERTIFICACIÓN DE LA CEPA
Peptostreptococcus anaerobius
ATCC® 27337™**




Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Peptostreptococcus anaerobius Catalog Number: 0322 Lot Number: 322-78 Reference Number: ATCC® 27337™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2017/5/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kishia L. Negen Release Date: 2015/6/15
--	--

Performance	
Macroscopic Features: Small, gray to white, circular colonies	Medium: AR SBAP
Microscopic Features: Small gram positive cocci	Method: Gram Stain (1)

ID System: Vittek ANC (1)
 See attached ID System results document.



Brad Goskowitz, President
 AUTHORIZED SIGNATURE

Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging serial number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.



Note for Vittek®: Although the Vittek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

1. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. or licensed to use these trademarks and/or sell products derived from ATCC® cultures.

(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

TESTING CERT #2655.01

MicroBiologics

bioMérieux Customer: 05671
 System #: C21105

Laboratory Report

Printed Jun 15, 2015 11:33 CDT
 Printed by: khn
 Report Version: 1 of 1

Isolate Group: 322 78-1

Bench: KN

Card Type: ANC Testing Instrument: 00000A6D6328 (1116)

Bionumber: 020000000003

Organism Quantity:

Comments:

Identification Information	Card: ANC	Lot Number: 244351510	Expires: Jul 29, 2016 13:00 CDT
	Completed: Jun 11, 2015 19:58 CDT	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours
Selected Organism	99% Probability Peptostreptococcus anaerobius		Confidence: Excellent identification
SRF Organism	Bionumber: 020000000003		
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			

Biochemical Details																	
4	αGAL	-	5	LeuA	-	6	ELLM	-	7	PheA	-	8	ProA	+	10	PyrA	-
11	αCEL	-	13	TyrA	-	15	APPA	-	18	αGLU	-	20	αMNE	-	22	αMAL	-
28	SAC	-	30	ARB	-	33	NAG	-	34	βGLU	-	36	URE	-	37	βGUR	-
39	βGAL	-	41	AAPA	-	42	αGAL	-	43	βMAN	-	44	ARG	-	45	αVATE	-
51	MTE	-	53	ESC	-	54	βFUC	-	55	βNAG	-	56	AMANI	-	57	αFUC	-
59	PHOS	-	60	ARA	-	61	αHIB2	-	62	OPS	-	63	AARAF	-	64	αXYL	-
	GRAM	+		MORPH	+		AERO	-									

CERTIFICACION DE LA CEPA
Prevotella melaninogenica
ATCC® 25845™

MicroBiologics

bioMérieux Customer: 05871
 System #: C21105

Laboratory Report

Printed Jun 3, 2015 16:02 CDT
 Printed by: cnc
 Report Version: 1 of 1



solate Group: 110 24-1

Bench: CC

Card Type: ANC Testing Instrument: 00000A6D6328 (1116)

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Prevotella melaninogenica</i> Catalog Number: 0110 Lot Number: 110-24 Reference Number: ATCC® 25845™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2017/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2015/6/12
---	--

Performance

Microscopic Features:
 More than one colony types may be present. The predominant type is AR SBAP medium to large, circular, convex, entire edge (edge may spread), light tan, smooth and opaque. Another is medium to large, circular, convex, brown. Also, a brown, larger, convex colony type, which may be circular or irregular in shape, may be seen. All are beta hemolytic.

Medium:

Microscopic Features:
 Gram negative coccobacillus to short bacillus

Method:
 Gram Stain (1)

ID System: Vitek ANC (1)
 See attached ID System results document.

Brad Goskowitz, President
 AUTHORIZED SIGNATURE

Disclaimer: The use of the lot number appearing on the packaging is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

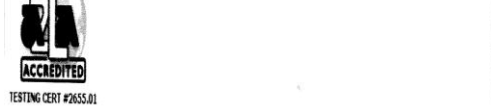
Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

ATCC Licensed Derivative
 (1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. as licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(2) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005



Bionumber: 0040003005100
 Organism Quantity:

Comments:	

Identification Information	Card: ANC	Lot Number: 244351510	Expires: Jul 28, 2016 13:00 CDT
	Completed: Jun 2, 2015 20:38 CDT	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours

Selected Organism	99% Probability	Prevotella melaninogenica	Confidence: Excellent identification
	Bionumber: 0040003005100		

SRF Organism	
Analysis Organisms and Tests to Separate:	
Analysis Messages:	
Contraindicating Typical Biopattern(s)	

Biochemical Details

4	αGAL	-	5	LeuA	-	6	ELLM	-	7	PheA	-	8	ProA	-	10	PyrA	-
11	αCEL	-	13	TyrA	-	15	APPA	+	18	αGLU	-	20	αMNE	-	22	αMAL	-
28	SAC	-	30	ARB	-	33	NAG	-	34	βGLU	-	36	URE	-	37	βGURI	-
39	βGAL	+	41	AAAPA	+	42	αGAL	-	43	βMAN	-	44	ARG	-	45	βVATE	-
51	MTE	-	53	ESC	-	54	βOFUC	-	55	βNAG	+	56	αMAN	-	57	αIFUC	+
59	PHOS	+	60	ARA	-	61	αRIB2	-	62	OPS	-	63	AAAF	-	64	αXYL	-
	GRAM	-		MORPH	?		AERIO	-									

ANEXO N° 5: CERTIFICACIÓN DEL AGAR SCHAEGLER



Certified : ISO 9001:2008, ISO 13485-2003 and WHO GMP

HiMedia Laboratories Private Limited
23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086
Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M291	Material Name : Schaepler Agar	Lot No : 0000247369
Report No. : 04000600430	Date of Report : 02.11.2015	Expiry Date : Oct-2019

Appearance
Cream to yellow homogeneous free flowing powder . Observed : Light yellow

Gelling
Firm, comparable with 1.5% Agar gel

Colour and Clarity of prepared medium
Light amber coloured clear to slightly opalescent gel forms in Petri plates

Reaction
Reaction of 4.34% w/v aqueous solution at 25°C.

pH
pH Range : 7.40-7.80 Observed : 7.78

Cultural Response
Cultural characteristics observed after an incubation at 35-37°C for 18- 48 hours under anaerobic condition.

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Recovery
Cultural Response			
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	50-100	luxuriant	>=50%
<i>Clostridium butyricum</i> ATCC 13732	50-100	luxuriant	>=50%
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13924	50-100	luxuriant	>=50%
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	50-100	luxuriant	>=50%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>=10 ⁶	inhibited	0%
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	50-100	luxuriant	>=50%

- . ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection
- . NCTC and National Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency

Control Media :
. For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
. For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

- . All ISO 11133 : 2014 (E) control strains are included in the Quality parameter
- . HiMedia Laboratories Pvt Ltd is certified for ISO 9001-2008, ISO 13485-2003 and WHO GMP.

. Information for BSE/TSE Risk The material was subjected to pH <= 7.0 and/or a temperature in excess of 75°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform

PAGE : 1/2



Certified : ISO 9001:2008, ISO 13485-2003 and WHO GMP

HiMedia Laboratories Private Limited
23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086
Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M291	Material Name : Schaepler Agar	Lot No : 0000247369
Report No. : 04000600430	Date of Report : 02.11.2015	Expiry Date : Oct-2019

Encephalopathy/ TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) and dioxine are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific risks material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED

This is to certify that this lot passes and it confirms to the above mentioned tests and specifications . The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current HiMedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

This document has been produced electronically and is valid

Sheela Khaite

Microbiologist/Analyst

Sangeeta Kamat

Dy QC/Dy QA Manager


Dr. Santosh Kaul

Quality Assurance Manager


02.11.2015

ANEXO N° 6: REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS


- 1**




Wipe the unopened **ENR-5/10™** pouch to equilibrate to room temperature. For each pouch, it will activate the **ENR-5/10™** unit.
- 2**




Touch all Pk. 5a portion on the label and attach it to the primary culture plate or QC vial. Do not disassemble the device during incubation.
- 3**




Push (press only) the ampoule at the top of the **ENR-5/10™** just below the fluid meniscus of the alcohol fuel in the cap to release the hydrating fuel.
- 4**




Hold vertically and tap on a hard surface to facilitate flow of fuel through shaft into bottom of unit containing pellet. Allow the hydrating fuel to flow through the wick shaft and into the bottom portion of the unit containing the pellet.
- 5**




Using a pinching action on the bottom portion of the unit, crush the pellet in the fuel and the pellet suspension is homogeneous.
- 6**




IMMEDIATELY heavily rotate the vial with the hydrated material and transfer to agar medium.
- 7**




Inoculate the primary culture plate(s) by gently mixing the swab over one third of the plate.
- 8**



Using a fork loop, break to facilitate aeration incubate.
- 9**



Using proper biohazard disposal, discard the **ENR-5/10™**.
- 10**



IMMEDIATELY incubate the inoculated primary culture plate(s) at temperature and conditions appropriate to the microorganism.

ANEXO N°7 FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tabla 1. MEDICION DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS

SOLUCIÓN	PREVOTELLA MELAMINOGENICA	
	PLACA 1	PLACA 2
GRUPO EXPERIMENTAL		
Ciprofloxacino +metronidazol+ hidróxido de calcio		
Ciprofloxacino +metronidazol +amoxicilina/ácido clavulánico		
GRUPO CONTROL		
3 mix		

Tabla 2. MEDICION DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS COMBINACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS

SOLUCIÓN	PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS	
	PLACA 1	PLACA 2
GRUPO EXPERIMENTAL		
Ciprofloxacino +metronidazol+ hidróxido de calcio		
Ciprofloxacino +metronidazol +amoxicilina/ácido clavulánico		
GRUPO CONTROL		
3 mix		

ANEXO N° 8 FOTOGRAFÍAS

FOTO 1



FOTO 2



FOTO 1: ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS PARA LA PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES

FOTO 3



FOTO 4



FOTO 3: MATERIALES COLOCADOS EN LA MESA DE TRABAJO

FOTO 4: COLOCACIÓN DE LAS PASTILLAS EN LOS MORTEROS

FOTO 5



FOTO 6



FOTO 5: TRITURACIÓN DE LAS PASTILLAS.

FOTO 6: LA MINOCICLINA SE PRESENTA EN TABLETA COMO EN CAPSULAS. SI SE UTILIZA EN LA PRESENTACIÓN DE TABLETA SE TIENE QUE RETIRAR LA CUBIERTA ENTÉRICA PORQUE CONTIENE COMPONENTES RESISTENTES AL ÁCIDO CLORHÍDRICO.

FOTO 7



FOTO 8



FOTO 7-8: TRITURACIÓN DE TODOS LOS MEDICAMENTOS

FOTO 9



FOTO 10



FOTO 9: BALANZA ANALÍTICA

FOTO 10: PREPARACION CON UN PEDAZO DE PAPEL CRAFT PARA LA COLOCACION DE LOS MEDICAMENTOS.

FOTO 11



FOTO 12



FOTO 11 -12: COLOCACIÓN DEL MEDICAMENTO.

FOTO |13



FOTO 14



FOTO 13: COLOCACION DEL MEDICAMENTO AL TUBO DE ENSAYO

FOTO 14: MEDICAMENTOS EN SUS RESPECTIVOS TUBOS DE ENSAYO

FOTO 15



FOTO 16



FOTO 15: MEDICAMENTOS COMBINADOS CON SUS RESPECTIVAS SOLUCIONES

FOTO 16: RESULTADOS DE LA COMBINACIÓN DE LAS SOLUCIONES ANTIBIÓTICAS OBTENIDOS DE CADA UNO DE ELLOS.

FOTO 17

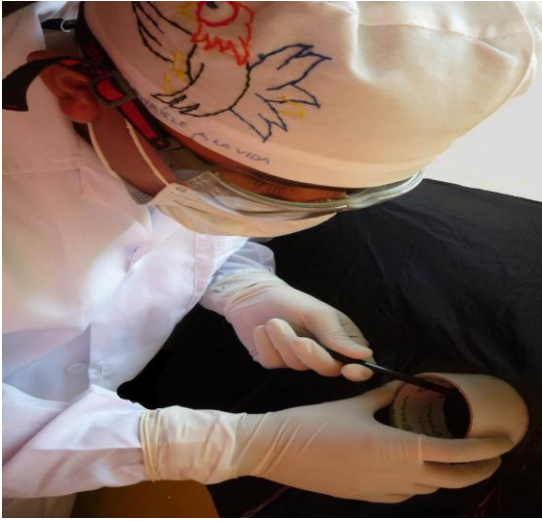


FOTO 18

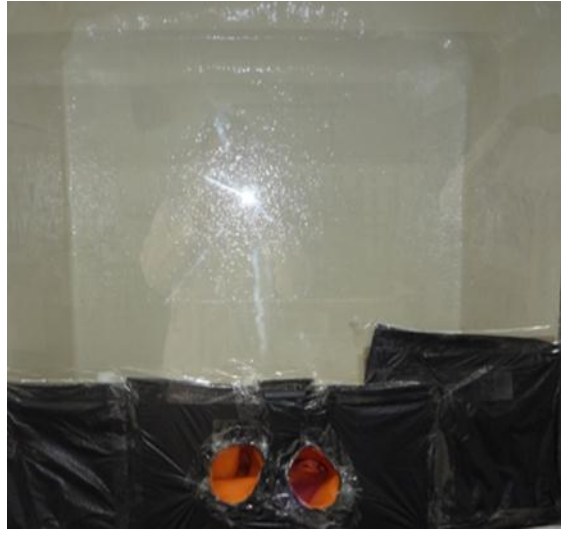


FOTO 19:



FOTO 20:



FOTO 17-18-19-20: PREPARACIÓN DE UN AMBIENTE CERRADO PARA LA REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS.

VER ANEXO N°4
FOTO 21

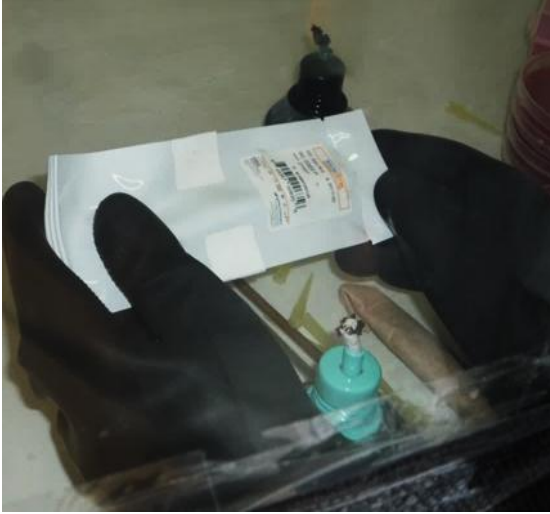


FOTO 22

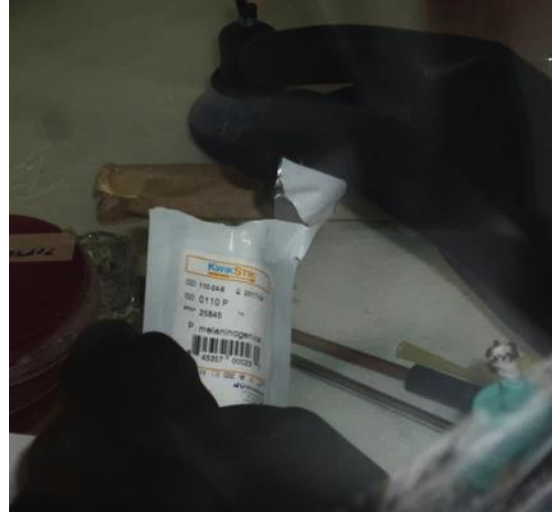


FOTO 23

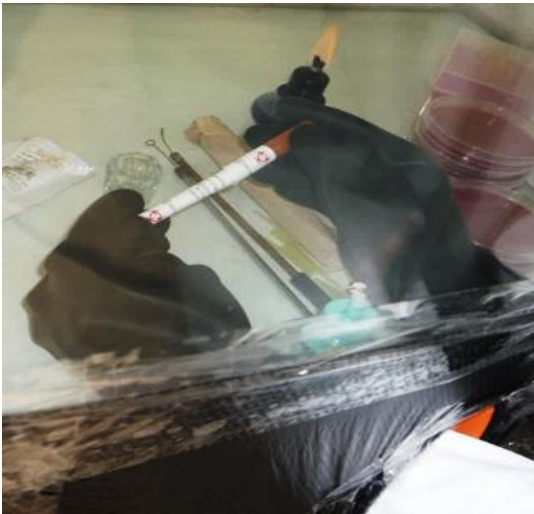


FOTO 24



FOTO 25



FOTO 26



FOTO 27



FOTO 28



FOTO 29



FOTO 30



FOTO 31



FOTO 32



FOTO 28-30 : DISCO PARA ANTIBIOGRAMA EXTERIL EXTRAIDO DE UN TAMBOR METALICO , FOTO 31-32:EXTRAIDO CON UNA PINZA ESTERIL DEL CUAL SE UTILIZA PARA CADA TIPO DE CEPA BACTERIANA , FOTO 33-34: COLOCACION DE LOS DISCOS EN LA PLACA

FOTO 33



FOTO 34



FOTO 35



FOTO 36



FOTO 37



FOTO 38



FOTO 33 -34: EXTRACCION DE LA SOLUCION COMBINADA DE LOS ANTIBIOTICOS MEDIANTE UNA MICROPIPETA PARA LUEGO DEPOSITARLO EN EL DISCO PARA ANTIBIOGRAMA, FOTO 35 : UTILIZACION DE LA CAJA METALICA COMO MEDIO GENERADOR DE ANAEROBIOSIS NO SIN ANTES COLOCANDO UNAS VELAS EN SU INTERIOR PARA QUE SE CONSUMA EL OXIGENO

FOTO 39



FOTO 40

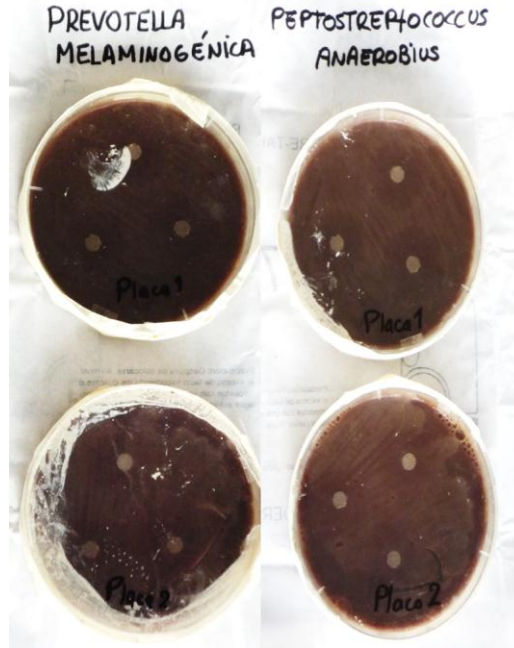


FOTO 41



FOTO 42



FOTOS 40: PREVOTELLA MELAMINOGENICA Y PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS .RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD.
FOTO 41 MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBION