MARC
508
R.155.19

+SA165u
2013

Universidad de Valparaíso
CHILE

ESCUELA DE GRADUADOS

USO DEL PROPÓLEO COMO MEDICACIÓN INTRACONDUCTO EN ENDODONCIA

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS
FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Trabajo de Investigación
Requisito para optar al Título
de Especialista en Endodoncia

Alumna: Dra. María Fernanda Salinas Molina

Directora Del Programa
Prof. Dra. Alicia Caro Molina
Docente Guía: Prof. Dra. Patricia Nazar Misleh
Cátedra de Endodoncia

Valparaíso - Chile
2013

Dedicado a mi familia, papas, hermanos y a Javier que han sido y serán siempre el apoyo y motivación principal para lograr mis metas...

AGRADECIMIENTOS

- Al Señor Jorge Contador de la empresa Apitel, que me ayudó con la composición y obtención del propóleo.
- Al Dr. Jorge Torres Maldonado, por su dedicación y buena disposición para la realización de los cultivos y la siembra, y el diseño del caso clínico.
- A Marco Chávez, bibliotecólogo de la facultad de Odontología, por su amabilidad y rápida cooperación cuando fue necesaria.
- A mi docente guía Dra. Patricia Nazar Misleh, por su ayuda y apoyo durante todo el período de especialidad.

INDICE

INTRODUCCIÓN 1

OBJETIVOS 3

MARCO CONCEPTUAL 4

I. MICROBIOLOGIA EN ENDODONCIA 4

1. Pulpa Dental *4*

2. Vías de acceso de los microorganismos a la pulpa *5*

3. Requerimientos de un patógeno endodóntico *8*

4. Microorganismos asociados a infecciones endodónticas *9*

5. Biofilm en endodoncia *17*

II. MEDICACION INTRACONDUCTO 18

1. Tipos de medicación intraconducto *22*

1.1 Antimicrobianos 22

1.1.1 Pastas antibióticas y pastas antibióticas con corticoides 22

1.2 Antisépticos 23

1.2.1 Yodoformo 24

1.2.2 Formaldehídos, paraformaldehídos, paramonoclorofenol alcanforado 24

1.2.3 Clorhexidina 26

1.2.4 Hidróxido de Calcio 29

1.2.5 Propóleo 34

III. REPORTE DE CASO CLÍNICO 45

CONCLUSIONES 51

RESUMEN 54

BIBLIOGRAFIA 57

I N D I C E

I N T R O D U C C I Ó N 1

O B J E T I V O S 3

M A R C O C O N C E P T U A L 4

I. MICROBIOLOGIA EN ENDODONCIA 4

1. Pulpa Dental 4

2. Vías de acceso de los microorganismos a la pulpa 5

3. Requerimientos de un patógeno endodóntico 8

4. Microorganismos asociados a infecciones endodónticas 9

5. Biofilm en endodoncia 17

II. MEDICACION INTRACONDUCTO 18

1. Tipos de medicación intraconducto 22

1.1 Antimicrobianos 22

1.1.1 Pastas antibióticas y pastas antibióticas con corticoides 22

1.2 Antisépticos 23

1.2.1 Yodoformo 24

1.2.2 Formaldehídos, paraformaldehídos, paramonoclorofenol alcanforado 24

1.2.3 Clorhexidina 26

1.2.4 Hidróxido de Calcio 29

1.2.5 Propóleo 34

III. REPORTE DE CASO CLÍNICO 45

C O N C L U S I O N E S 51

R E S U M E N 54

B I B L I O G R A F I A 57

I N T R O D U C C I Ó N

El objetivo principal de un tratamiento de endodoncia es la disminución de la carga bacteriana del sistema de conductos. Esto se puede lograr mediante la preparación biomecánica donde se intenta remover tejido pulpar, restos necróticos, microorganismos y dentina infectada. Su finalidad, por lo tanto, es proveer la limpieza en el conducto radicular, y generar paredes dentinarias lisas a las cuales el material obturador pueda adherirse.

La morfología del sistema de conductos genera dificultades al profesional para lograr su limpieza, ya que con la sola instrumentación manual no se tiene acceso a todas las sinuosidades de éste. Por tal razón, esta preparación física se debe complementar con sustancias químicas como los irrigantes y las medicaciones intraconducto.

En relación a las sustancias de medicación, existe un gran número de investigaciones con la finalidad de encontrar un agente que actúe eficazmente sobre la variada microbiota del sistema de conductos radiculares de dientes con lesión apical, además de tener características como acción antiexudativa, ser inductor de la mineralización, que actúe como disolvente de restos orgánicos y logre estimular la reparación y/o regeneración de los tejidos afectados (Leonardo, 2005). Aún no existe una sustancia que cumpla con todos estos objetivos, es por esto que se sigue en la búsqueda de la medicación ideal.

Últimas investigaciones, han centrado su atención en el uso de sustancias naturales, derivadas de plantas y animales, por sus bajas reacciones adversas y su poca citotoxicidad. Es así, que el propóleo, un compuesto natural originado por las abejas, ha tomado gran importancia en estudios in vivo e in vitro por su gran poder antibacteriano.

Esta revisión pretende analizar las características más relevantes del propóleo que lo presentan como una nueva alternativa de medicación

intraconducto ilustrando con un caso clínico su utilización y resultados obtenidos.

O B J E T I V O S

Objetivo General:

- Conocer el comportamiento del propóleo como medicación intraconducto en tratamientos de endodoncia.

Objetivos específicos:

- Revisar literatura existente con respecto al propóleo.
- Conocer propiedades químicas, biológicas y físicas del propóleo.
- Comprender el uso del propóleo en odontología.
- Revisar en la literatura la eficiencia del propóleo como medicación intraconducto con respecto a otras sustancias utilizadas para esto.
- Evaluar clínicamente la utilización clínica y actividad antimicrobiana del propóleo en endodoncia como medicación intraconducto.

M A R C O C O N C E P T U A L

I. MICROBIOLOGIA EN ENDODONCIA

La cavidad oral se compone de diversos tejidos. Cada uno de estos tejidos es poblado por distintos microorganismos, formando múltiples ecosistemas (Fraile, 2003). En la boca, se pueden aislar más de 500 especies diferentes, siendo casi todos transitorios.

Dentro de la microbiota residente, que corresponde a un grupo de alrededor de 20 especies, predominan los Gram positivos, especialmente los estreptococos viridans que alcanzan el 90% de la microbiota permanente. El 10% restante se divide en Gram negativos, bacilos Gram positivos anaerobios como *Actinomyces*, bacilos Gram positivos como *Lactobacillos*, bacilos gram negativos anaerobios como *Bacteroides, Prevotella* y *Fusobacterium.* (Fraile, 2003).

1. Pulpa Dental

La pulpa es un tejido blando, laxo y especializado, localizado al interior del diente. Sus células producen dentina, que va a contener la pulpa, es por esto que ambos tejidos están íntimamente relacionados (Walton, 1996).

Está compuesta por distintos grupos tisulares como nervio, tejido vascular, tejido conectivo, sustancia fundamental, líquido intersticial, fibroblastos y odontoblastos (Walton, 1996).

Como anteriormente se mencionó, la función primaria del tejido pulpar es la formación de dentina, realizada por los odontoblastos. Una vez completada la formación del diente, la pulpa cumplirá otras funciones como entregar sensibilidad, hidratación y defensa (Walton, 1996).

Se reconocen 5 funciones principales de la pulpa:

1. Inducción: Participa de la inducción de odontoblastos y en la formación de dentina y esmalte. Los ameloblastos participan en la diferenciación de odontoblastos, y éstos a su vez, en conjunto con la dentina, en la formación de esmalte (Walton, 1996).
2. Formación: Los odontoblastos son células altamente especializadas, participan en la formación de dentina de tres formas: sintetizan y secretan la matriz orgánica, transportan inicialmente componentes inorgánicos a esta matriz y crean un ambiente que permite la mineralización de esta matriz. La formación de dentina es un proceso que ocurre a lo largo de toda la vida pero, que con el paso de los años se torna más lento y menos simétrico (Walton, 1996).
3. Nutrición: Por medio de los túbulos dentinarios la pulpa proporciona los nutrientes e hidratación necesarios (Walton, 1996).
4. Defensa: Los odontoblastos forman dentina en respuesta a una agresión, ya sea por caries, traumatismo, etc., sin embargo, el grosor y la calidad de esta dentina no es la misma a la producida fisiológicamente y no proporciona el mismo grado de protección a la pulpa. También puede haber una reacción inflamatoria e inmunológica en la pulpa para tratar de eliminar la noxa que se haya presentado (Walton 1996).
5. Sensibilidad: La pulpa transmite las sensaciones al sistema nervioso central que se expresan siempre como dolor (Walton, 1996).

2. Vías de acceso de los microorganismos a la pulpa

Los microorganismos pueden ingresar y colonizar la pulpa mediante distintos mecanismos:

- Acceso vía túbulos dentinarios:

Los túbulos dentinarios pueden exponerse por la pérdida de esmalte o dentina. Gracias a esto, los microorganismos pueden penetrar, proliferar y avanzar por los túbulos (Liébana 2002).

La presencia de bacterias y sus toxinas generan una respuesta inflamatoria en el tejido pulpar (Love y cols, 2002). La eliminación del cemento durante el tratamiento periodontal también genera una exposición de los tubulillos, favoreciendo la invasión microbiana en la pulpa (Cohen, 2011).

Existe un consenso en que las bacterias productoras de ácido invaden los túbulos y desmineralizan las paredes. Los ácidos, bacterias y metabolitos difunden rápidamente, afectando y destruyendo los odontoblastos y penetrando finalmente al tejido pulpar. El número de bacterias aumenta, hay infiltrado inflamatorio de leucocitos Polimorfonucleares neutrófilos y se forma una absceso, provocando la muerte pulpar (Cohen, 2011)

Siqueira y colaboradores, el año 1997, concluyeron que existe invasión bacteriana cuando el grosor de la dentina es igual o menor a 0.2 mm desde el límite de la caries a la cámara pulpar y es posible gracias a la división celular y favorecida por la masticación (Siqueira y cols, 1997).

- Acceso vía periodontal:

Los dientes con compromiso periodontal, sufren invasión bacteriana de la microbiota presente en los sacos periodontales, accediendo por medio de conductos accesorios, laterales y deltas apicales (Liébana 2002, De Lorenzo 2004). Existe una mayor cantidad de bacterias en los túbulos de dientes con enfermedad periodontal que en dientes sanos (Adriaens, 1988). Además, por el tratamiento de esta patología, el curetaje radicular puede exponer los túbulos favoreciendo la penetración de microorganismos hacia la pulpa. Por esto, se puede concluir que el ligamento periodontal también es una vía de acceso de las bacterias y sus toxinas a la cámara pulpar (Cohen, 2011).

- Acceso vía hematógena:

Esta vía de infección está dada por la anacoresis, que es la atracción de los microorganismos presentes en la sangre hacia los tejidos inflamados

o necróticos, pero de todas maneras el tejido pulpar debe estar previamente necrótico. Es raro que ocurra este fenómeno (Adriaens, 1988).

También existen casos de necrosis asépticas, producidas por el corte del suministro sanguíneo a la pulpa, el tejido permanece sin bacterias, pero puede infectarse por cualquiera de las tres vías mencionadas anteriormente.

En la actualidad, es conocida la relación directa de las infecciones bacterianas con los problemas endodónticos. En 1980 W.D.Moller fue el primero en asociar la presencia de bacterias con la enfermedad pulpar. Por esta razón, el objetivo principal de un tratamiento de endodoncia es limpiar y desinfectar el sistema de conductos y prevenir la infección o sobreinfección de los tejidos periapicales. Cualquier lesión pulpar, puede desencadenar una respuesta inflamatoria de ésta.

Es sabido también, que los irritantes pulpares pueden tener naturaleza física, química o microbiológica, siendo este último el principal agente etiológico. Es así que las patologías pulpares y/o periapicales son comúnmente resultado directo o indirecto de la infección bacteriana y otros microorganismos (Aguilar, 2004).

Por otra parte, el sistema de conductos es un ambiente muy complejo debido a su diversa anatomía que considera la presencia de conductos accesorios, curvaturas, bifurcaciones, conductos laterales y deltas apicales. Éstos forman microambientes de difícil acceso, por lo que favorecen el crecimiento y permanencia bacteriana (Liébana, 2002).

También podemos encontrar un constante cambio en la microbiota bacteriana durante el curso de una enfermedad pulpar (la flora de una pulpitis es distinta a la de una pulpa necrótica) este proceso se denomina sucesión bacteriana y consiste en la variación de microorganismos según las

condiciones del hábitat. En las pulpas recientemente infectadas se aíslan en mayor proporción bacterias anaerobias facultativas gram positiva (Liébana, 2002).

Con la maduración del proceso infeccioso, las bacterias van consumiendo las cantidades de oxígeno presentes en el medio, esto va a favorecer el desarrollo de bacterias anaerobias estrictas gram negativas (De Lorenzo 2004). Estas bacterias como *Prevotella, Porphyromonas y Fusobacterium* se ubican en la zona apical del conducto donde las condiciones de anaerobiosis son las mejores y pueden obtener exudado rico en proteínas. Con la necrosis pulpar, el exudado ocupa todo el canal, favoreciendo el crecimiento de estas bacterias por todo el sistema de conductos (De Lorenzo, 2004).

Aún así, toda infección endodóntica es polimicrobiana, ya que se requiere la sinergia de los microorganismos aerobios y la producción de algunos nutrientes específicos para la supervivencia de otros (Sundqvist, 1992).

3. Requerimientos de un patógeno endodóntico

La pulpa sana es un tejido estéril, que al ser contaminada con bacterias produce patologías pulpares y periapicales. Según Siqueira, para que un microorganismo logre infección pulpoperiapical deben darse ciertas condiciones, que se mencionan a continuación (Siqueira et al, 2002):

- Deben darse en una cantidad suficiente para producir y mantener patología periapical.
- Deben tener factores de patogenicidad que puedan expresarse durante el proceso infeccioso.
- Deben ubicarse en el sistema de conductos para que las toxinas alcancen la zona periapical.

- El sistema de conductos debe permitir la supervivencia y crecimiento de los microorganismos.
- Las relaciones antagónicas entre microorganismos deben darse en baja proporción o casi nula.
- El huésped se defiende de la infección, pudiendo en este proceso resultar dañado el tejido periapical.

4. Microorganismos asociados a infecciones endodónticas

a) *Fusobacterium nucleatum*

Son bacilos gram negativos anaerobios estrictos, moderadamente sacarolíticos, que sintetizan material de reserva en base a polímeros de glucosa. Su producto de metabolismo final es el ácido butírico. Generalmente esta en el surco gingival, pero puede aislarse en vías respiratorias, intestino y en conductos necróticos. Su poder patógeno está relacionado con la producción de compuestos solubles que inhiben la quimiotaxis de los neutrófilos. Tiene la capacidad de coagregarse a otras bacterias produciendo placas y favoreciendo la colonización (Liébana, 2002).

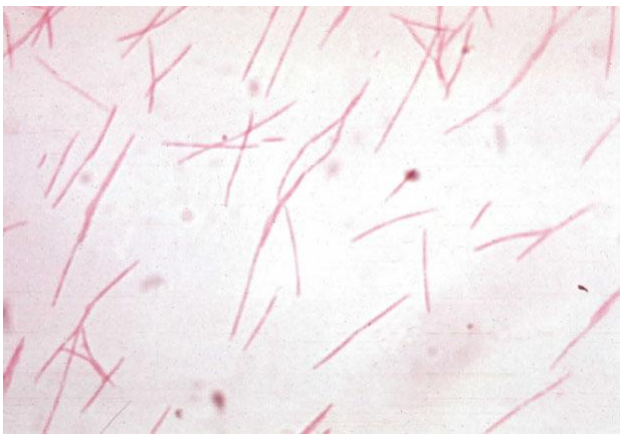

Fig.1. *Fusobacterium nucleatum.*

(Cultivo con tinción gram-negativa. Imagen cortesía de f J. Michael Miller, Ph.D.,(D)ABMM of National Center for Zoonotic, Vector-borne, and Enteric Diseases. Picture submitted by him to American Society for Microbiology)

Son bacterias asacarolíticas ya que emplean compuestos nitrogenados para su metabolismo. No está presente en individuos sanos, por tanto no es parte de la microbiota normal. Se asocia a procesos de gingivitis, pulpitis, abscesos periodontales y apicales. Posee una cápsula polisacárida que tiene propiedades antifagocíticas por ser antiopsónica, también posee una membrana externa que tiene proteínas que se comportan como adhesinas, que participan en fenómenos de coagregacion plaquetaria y adhesión a superficie dentaria y epitelial, esto también es ayudado por la presencia de fimbrias. Esta bacteria contiene muchas proteasas, como la hialuronidasa, la fosfatasa alcalina, etc, teniendo un efecto destructivo en los tejidos (Liébana, 2002).

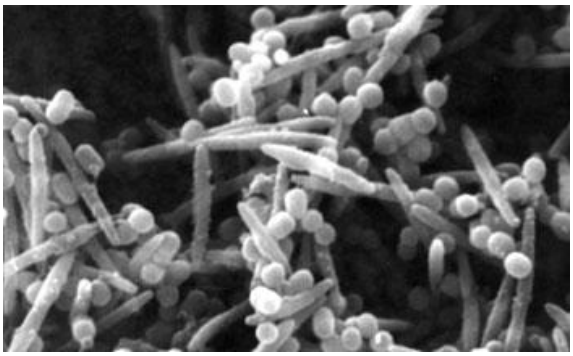

Fig.2. *Porphyromona gingivalis*

(Tomado de http://www.scripps.edu/wolan/research.html)

c) *Prevotella spp*

Se relacionan con multitud de procesos como infecciones pulpares, abscesos periapicales, alveolitis, entre otros. Su patogenicidad está más asociada al sinergismo con otras especies, favoreciendo el crecimiento de éstas. Se le ha descrito la presencia de fimbrias y adhesinas, la capacidad de degradar inmunoglobulinas y su actividad fibrinolítica (Liébana, 2002).

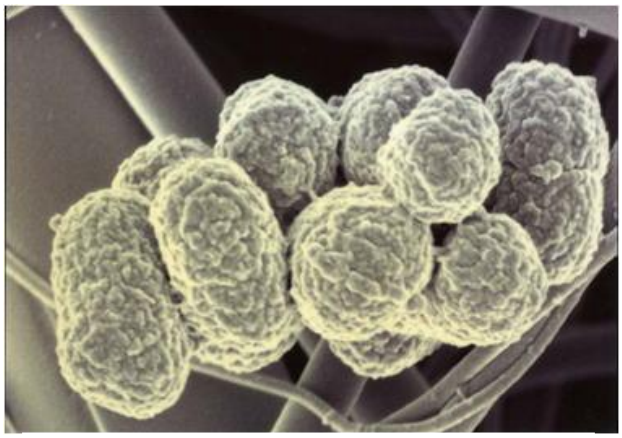

Fig.3. *Prevotella intermedia*

Tomada de http://www.saishika.jp/biofilm/aa.html

d) *Peptoestreptococus spp*

Son bacterias cocos gram positivos de cadenas cortas, anaerobios, cuyo principal factor de virulencia es la colagenasa y la betalactamasa. Frecuentemente se aíslan en conductos necróticos (Liébana, 2002)

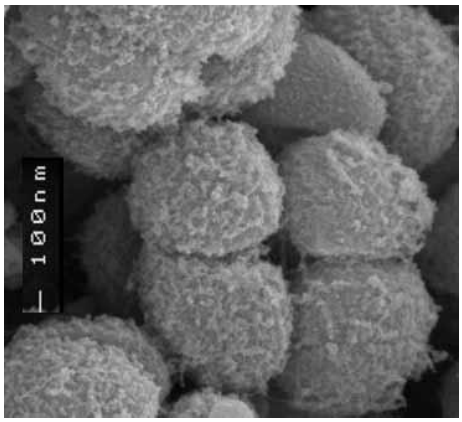

Fig.4.*Peptoestreptococcos*

Tomado de http://vietsciences2.free.fr/khaocuu/nguyenlandung/cacnhomvikhuanchuyeu6.htm

e) *Enterococcus faecalis*

Es un coco anaerobio facultativo, gram positivo que habita en el tracto gastrointestinal y genitourinario de la mujer. La mayoría de sus cepas

obtienen lactosa por la fermentación de la glucosa. En su pared celular poseen antígenos del grupo D y un ácido lipoteicoico intracelular asociado a la membrana plasmática. Puede crecer en temperaturas entre 10ºC y 45ºC. Es un microorganismo oportunista, crece con facilidad en medios difíciles con poco oxigeno y nutrientes y forma biopelículas entre sí o con microorganismos de otra especie. También favorece su crecimiento su elevado potencial de oxido-reducción (Liébana, 2002). Se asocia fuertemente a los fracasos en los tratamientos de endodoncia, aunque también se ha visto en lesiones primarias de origen pulpar. Se puede encontrar asociado a *Streptococcus, Lactobacillus* y otras bacterias anaerobias lo que puede crear una flora mixta aun más virulenta (Liébana, 2002).

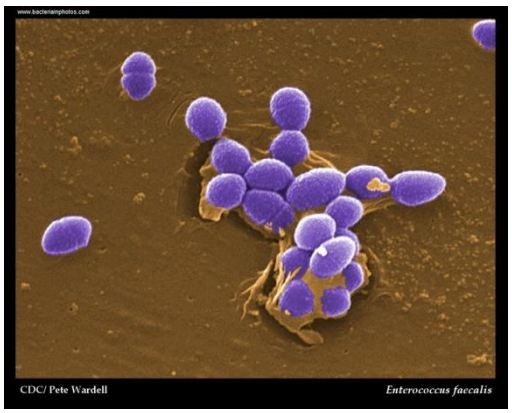

Fig.5. *Enterococcus faecalis*

Tomado de http://www.bacteriainphotos.com/Enterococcus%20faecalis%20electron%20microscopy.html

f) *Streptococcus spp*

Son cocos gram positivos, anaerobios facultativos, asociados en parejas o cadenas, que no producen catalasa y fermentan la glucosa con producción de ácido láctico. Son habitantes normales de la mucosa oral, respiratoria y gastrointestinal. Sus factores de virulencia son: Ácidos teicoícos y lipoteícoicos, que tienen carácter antigénico e intervienen en procesos de adhesión. También presentan carbohidratos en la pared celular

y fimbrias que intervienen en proceso de adhesión, de agregación y coagregación bacteriana. Su cápsula tiene acción antiopsónica y la capa mucosa está constituida por polisacáridos extracelulares que es de gran importancia en los fenómenos adhesivos especialmente en la formación del biofilm (Liébana, 2002).

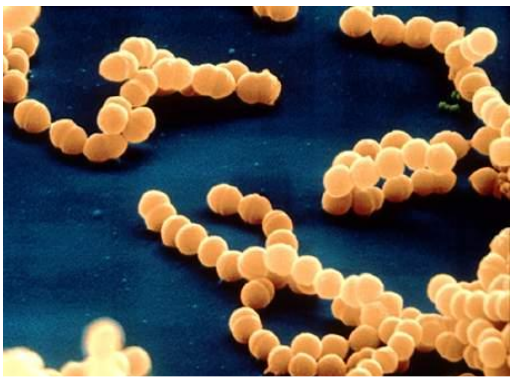

Fig.6.*Streptococcus mitis*

Tomada de http://microbiologiavip.blogspot.com/2012/03/staphylococcus-y-streptococcus.html

g) *Candida Albicans*

Esta especie crece como células de levadura típicas de 4 a 6 µm redondas u ovaladas, con gemación en la mayoría de las condiciones y en casi todas las temperaturas, crecen en condiciones de anaerobiosis en medios de cultivo a pH entre 2,5 y 7,5 y entre 20ºC y 38ºC. Estos microorganismos son oportunistas y se encuentran como comensal en cavidad bucal, intestino, vagina, secreción bronquial y piel. Coloniza tejidos principalmente cuando el hospedero presenta algún factor predisponente o inmunosupresión (Castrillon et al, 2005).

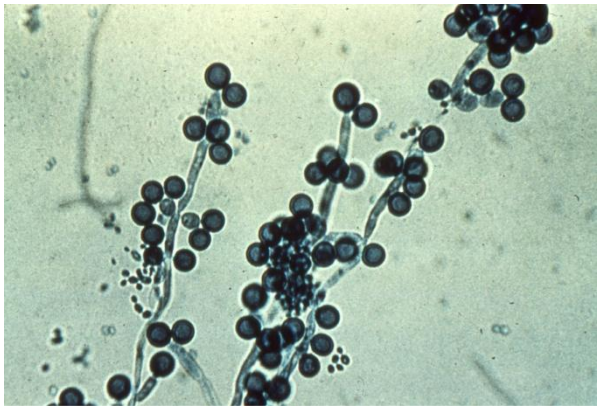

Fig.7.*Candida albicans*

Tomada de pathmicro.med.sc.edu

Miller, en 1894, fue el primero en demostrar que existía invasión bacteriana de cocos y bacilos en los túbulos de dentina infectada y no infectada, así como también, en la pulpa necrótica (Miller W, 1894).

Más adelante, fueron Kakehashi y cols, en 1965, los que establecieron claramente el papel fundamental de las bacterias en la enfermedad pulpar y periapical. Realizaron un estudio con ratas gnotobióticas (sin microorganismos), las que aún con pulpas de molares expuestas, no desarrollaron enfermedad pulpar, mientras que las ratas quirúrgicamente expuestas a bacterias desarrollaban rápidamente estos cuadros (Kakehashi y cols, 1965).

Variados estudios (Sundqvist y cols, 1989; Baumgartner y cols, 1999; Hancock y cols, 2001) coincidieron que del total de la microbiota aislada en infecciones endodónticas, el 90% era anaerobia y anaerobia facultativa. Del mismo modo, determinaron que la microbiota presente en pulpas necróticas es polimicrobiana, con presencia de una amplia variedad y combinaciones de bacterias, con un promedio de 7 especies por conducto, en igual proporción gram positivas y gram negativas. También determinaron que sólo puede haber signos de respuesta inflamatoria periapical en dientes donde el sistema de conductos presenta infección bacteriana.

Sundqvist y colaboradores en su estudio de 1989, encontraron 173 cepas bacterianas en 72 conductos, los más prevalentes fueron *Fusobacterium, y Peptoestreptococos.* Los bacilos anaerobios, *Porphiromona y Prevotella* también se asocian fuertemente a la etiología de las patologías pulpoperiapicales, y se puede deber a que las proteinasas producidas por estos microorganismos tienen efecto en proteínas plasmáticas involucrados en los procesos de defensa del huésped (Sundqvist y cols, 1989).

Siqueira et al, confirmaron en su estudio la alta prevalencia de las *Porphiromonas,* siendo las más comunes la *P. endodontalis* y la *P. gingivalis.* (Siqueira et al, 2003). Estas especies siempre están asociadas a otras especies gram positivas, confirmando el sinergismo entre bacterias en infecciones polimicrobianas. Tienen requerimientos nutricionales específicos que son proporcionadas por *Peptoestreptococcus micro,* y *Eubacterium spp.* (Sundqvist, et al, 1994)

Debelian et al, realizaron un estudio para evaluar la presencia de microorganismos en conductos ya instrumentados, en dientes con diagnóstico de necrosis pulpar asociado a absceso apical agudo. Se determinó que el 100% de los conductos presentaban microorganismos, la mayoría anaerobios estrictos, y en el 53% de las muestras había presencia de *Fusobacterium nucleatum (*Debelian et al, 1995)

Pocos estudios reportan presencia de hongos en infecciones pulpares, Pardi et al, determinaron que el 10% de sus muestras evidenciaban la presencia de *Candida* y podría estar asociado a la presencia de estos microorganismos en la saliva del paciente.

Gomes y colaboradores evaluaron la sensibilidad de la microbiota del sistema de conductos antes y 7 a 10 días después de la preparación biomecánica, y encontraron que había un gran cambio en el microambiente entre ambas mediciones, hubo disminución de la flora anaerobia, lo que se

considera una disminución en la virulencia de la microbiota (Gomes et al, 1996).

Otro estudio evaluó la flora presente en conductos tratados endodónticamente pero con periodontitis apical persistente. La mayor prevalencia que se encontró fueron los anaerobios facultativos gram positivos, el más frecuentemente encontrado fue el *E. faecalis,* pero también fueron aislados en cantidades importantes *Lactobacillus, E. coli, Fusobacterium spp, Prevotella spp* y *C. albicans* (Molander, et al, 1998).

En 1999 un grupo de investigadores determinaron que la *Candida ssp* era sensible al hipoclorito de sodio, a la clorhexidina y al yoduro de potasio, por el contrario, el hidróxido de calcio no producía efecto antimicrobiano a esta especie (Waltimo, 1999).

Arroyo, el año 2000, concluyó que en muestras obtenidas de la secreción de un absceso dentoalveolar agudo, el 62,5% eran especies anaerobias, y el 35,7% eran anaerobias facultativas. Así mismo, se determinó que la infección mixta fue la más frecuente generándose en el 73% de los casos (Arroyo, 2000).

Evans en el año 2002, confirmó la sobrevivencia del *E.faecalis* a pHs extremos, como los producidos con el hidróxido de calcio. Se concluyó la presencia de bombas de protones para acidificar el medio, permitiendo su resistencia frente a este antimicrobiano, no así frente al hipoclorito de sodio (Evans et al, 2002).

Los estudios que existen en la actualidad proporcionan un argumento a favor de la formación de un biofilm bacteriano en la etiología de la persistencia de infecciones endodónticas. El fundamento de este enfoque ecológico, sugiere que los microorganismos llamados “peligrosos” no constituyen una sola especie, sino una entidad polimicrobiana que sufre cambios fisiológicos y genéticos provocados por los cambios del entorno del conducto radicular.

5. Biofilm en endodoncia

El biofilm o biopelícula se define como una estructura asociativa de una o varias especies bacterianas, embebidas en una matriz extracelular de polisacáridos autoproducida y que se encuentra adherida a una superficie o sustrato (Svensater y cols, 2004). Según la OMS, el biofilm se puede definir también como un ecosistema bacteriano proliferante y enzimáticamente activo. Los biofilms se unen a superficies inertes, tanto biológicas como sintéticas. Dentro de las biológicas optan preferentemente por tejidos necróticos.

En endodoncia, esta asociación bacteriana tiene gran importancia ya que es más resistente a las distintas sustancias antimicrobianas utilizadas y se postula como la causa de fracaso de tratamientos de conductos aparentemente correctos (Gilbert y cols, 1997).

Este biofilm produce en el paciente signos y/o síntomas clínicos leves o imperceptibles durante su crecimiento, debido a una baja tasa de división bacteriana. Los casos de infección periapical crónica deben considerarse, causados por infecciones de tipo biofilm (Svensater y cols, 2004).

Se ha postulado que la asociación de bacterias en forma de biofilm no es más que un mecanismo de adaptación de estos microbios a un entorno nuevo, generalmente hostil. Se postula que el biofilm no es raro en el conducto necrótico sino que es la forma de vida bacteriana más habitual, y que es incorrecto pensar que son entidades excepcionales. La coagregación bacteriana, que es la asociación de bacterias de distintas especies, está considerada una forma de biofilm más compleja y difícil de eliminar, ya que estas bacterias pueden combinar distintos mecanismos de defensa para mantener la comunidad asociada en biofilm (Chavez de Paz, 2007).

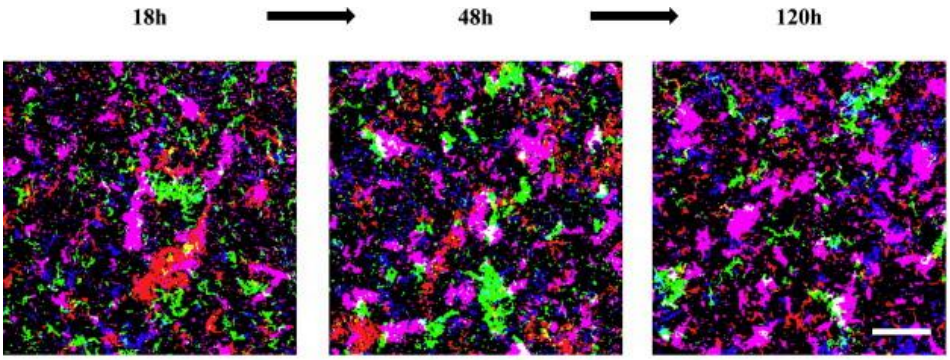

Fig.8. Microfotografía con microscopio laser confocal de un biofilm intraconducto luego de 18, 48 y 120 horas. Chavez de Paz, 2012.

II. MEDICACION INTRACONDUCTO

Microbiológicamente ya se mencionó la naturaleza polimicrobiana de las infecciones endodónticas, clínicamente los síntomas y signos de necrosis pulpar son muy claros.

Según el Update clínico realizado por Tordik y colaboradores el año 2010, del postgrado Naval de Berthesa en Maryland, la necrosis pulpar es un término histológico que denota muerte pulpar. Este estado, es el fin de la pulpitis irreversible y se puede presentar con síntomas variables, especialmente en dientes multirradiculados. Aun así, se determina que hay necrosis cuando la pulpa no responde a los test de vitalidad pulpar ni térmicos, ocasionalmente la pulpa necrótica puede presentar respuesta positiva al calor (Tordik et al, 2010).

La infección avanza desde el sistema de conductos hacia la zona periapical, por lo tanto, la necrosis pulpar puede ir acompañada de distintas patologías periapicales, como por ejemplo, Periodontitis Apical Sintomática, donde se presenta respuesta dolorosa a la masticación, percusión y/o palpación, radiográficamente puede o no estar asociada a una zona radiolúcida. La necrosis también puede coexistir con Periodontitis Apical Asintomática, donde no se observan síntomas clínicos, pero hay una radiolucidez apical en la radiografía. Cuando la invasión microbiana y la

reacción inflamatoria han progresado y sobrepasaron la respuesta inmune del paciente, se produce un Absceso Apical Agudo, donde va a existir dolor espontáneo, sensibilidad a la percusión, formación de pus e inflamación en los tejidos adyacentes. También podemos encontrar asociado a una necrosis pulpar, un Absceso Apical Crónico, donde puede o no haber una pequeña disconformidad en la zona, pero sí hay una descarga intermitente de pus asociado a un tracto sinuoso. Y finalmente, se puede asociar también a Osteitis Condensante, donde se observa radiográficamente una lesión radiopaca difusa en relación al ápice del diente necrótico (Tordik et al, 2010).

Frente a este escenario microbiológico, clínico y radiográfico, se debe tomar la mejor alternativa de tratamiento. Los estudios mencionados anteriormente de las infecciones de los conductos radiculares demuestran que la proporción relativa de microorganismos anaerobios aumenta con el tiempo, así como, el número de bacterias anaerobias facultativas aumentan cuando el conducto radicular permanece infectado por largos periodos de tiempo.

Por lo tanto, la eliminación de los microorganismos del sistema de conductos radiculares se hace indispensable y se intenta lograr por medio de la preparación biomecánica, el uso de irrigación y la medicación intraconducto.

Así la preparación biomecánica (PBM) está compuesta de:

- *Medios químicos*: que están representados por el uso de sustancias o soluciones de irrigación y medicación.
- *Medios físicos:* que comprenden los actos de irrigar y simultáneamente aspirar, así como inundar el conducto radicular con la solución de irrigación.
- *Medios mecánicos:* representados por la acción de los instrumentos, para la instrumentación de los conductos radiculares. (Leonardo, 2005)

Se espera que estos tratamientos permitan alcanzar ramificaciones del sistema y otras áreas inaccesibles.

Leonardo, refiere que no hay evidencia científica concluyente de que sólo la instrumentación biomecánica sea suficiente para la eliminación o disminución de bacterias del sistema de conductos (Leonardo, 2005). Es más, Peters y cols., mostraron que los instrumentos, durante la PBM, sin importar la técnica utilizada, nunca tocan más del 35% de la superficie total del sistema de conductos (Peters y cols, 2001). Es así, como cualquier resto de tejido orgánico, puede actuar como nutriente para organismos patógenos que pudieran permanecer, desencadenando un fracaso en el tratamiento de endodoncia (Leonardo, 2005).

Se puede decir, finalmente, que el objetivo principal del tratamiento endodóntico es la disminución de la carga bacteriana, dejándola a nivel mínimo. Para lograr la eliminación de estos microorganismos es que se justifica el uso de medicación intraconducto entre sesiones en conductos necróticos (Mohammadi, 2009).

Se puede definir, entonces, la medicación intraconducto como la colocación de un fármaco en el interior del sistema de conductos entre las sesiones que sean necesarias para la conclusión del tratamiento endodóntico con el objetivo de promover la desinfección o erradicación de microorganismos en los túbulos dentinarios (Soares, 2002).

Los objetivos de la medicación, así como las sustancias utilizadas van a depender de la situación clínica que se presente, los que pueden ser eliminación de bacterias, reducción de la inflamación de los tejidos periapicales, disolución del tejido orgánico remanente y evitar la microinfiltración coronaria (Pitt et al., 2002).

Se reconocen una serie de características ideales de un agente de medicación (Leonardo, 2005):

1. Destruir todos los microorganismos del sistema de conductos radiculares, es decir, amplio espectro antibacteriano.

2. Tener un efecto antimicrobiano duradero.

3. No verse afectado por material orgánico.

4. Ayudar en la remoción de tejido orgánico.

5. Penetrar en el sistema de conductos radiculares y túbulos dentinarios.

6. No presentar toxicidad sistémica, ni irritar los tejidos perirradiculares.

7. Tener propiedades inocuas.

8. Inducir una barrera de calcificación en la unión con los tejidos perirradiculares.

9. No tener efecto sobre las propiedades del material de obturación temporal.

10. No difundirse a través del material de obturación temporal.

11. Fácil colocación y remoción.

12. Ser radiopaco.

13. No manchar el diente.

14. Permanecer activo durante el periodo definido entre sesiones.

15. Baja tensión superficial para permitir contacto con microorganismos.

Soares y Goldberg, el 2004, determinaron que se debe considerar en la medicación los siguientes parámetros:

a) Cantidad: Se debe utilizar una cantidad suficiente como para que haga efecto, pero que no produzca daño en los tejidos circundantes.

b) Localización: Va a depender del tipo de medicamento utilizado, por ejemplo el hidróxido de calcio actúa por contacto, por lo tanto este debe estar en todo el sistema de conductos.
c) Tiempo de aplicación: Es indispensable conocer la vida útil del medicamento, ya que después de esto el fármaco se inactiva o su acción disminuye rotundamente.

1. Tipos de medicación intraconducto

Las sustancias utilizadas para la medicación intraconducto se pueden dividir en dos, sustancias antimicrobianas y antisépticas.

1.1 Antimicrobianos

Se han utilizado a lo largo de la historia antibióticos tópicos, ya que presentan algunas propiedades que favorecen el tratamiento, no son tóxicos para el tejido periapical y son activos en presencia de materia orgánica. Se deben utilizar combinaciones de estos, ya que se trata siempre de infecciones polimicrobianas (Stock et al, 1997).

A continuación se detallan algunos medicamentos antimicrobianos:

1.1.1 Pastas antibióticas y pastas antibióticas con corticoides

Se utilizaron en un principio pastas antibióticas puras, como la penicilina, pero en estudios donde se comparaba su acción contra la del Paramonoclorofenol Alcanforado (PMCFA) se observaba una eficacia reducida del antibiótico, es por esto que se combinó con eritromicina y se obtuvieron resultados algo mejores en contra de las bacterias gram negativas. Posterior a esto, se formuló el PBSC, que era una combinación de penicilina, bacitracina, estreptomicina y un antifúngico llamado caprilato de sodio. Este compuesto fue de uso común en los años `50 (Leonardo, 2005). Luego se demostró que el

uso masivo de antibióticos, podría traer algunas consecuencias negativas como (Leonardo, 2005):

- Posibilidad de provocar reacciones alérgicas.
- Posibilidad de sensibilizar a los pacientes.
- Interferencia en los cultivos (en caso de usarlos).
- Posibilidad de resistencia bacteriana.
- Facilitar crecimiento de hongos y levaduras.

En la actualidad, es de conocimiento general que las infecciones endodónticas son de microbiota mixta, por esa razón estos medicamentos ya están obsoletos (Leonardo, 2005).

Para mejorar su acción, los antibióticos se han combinado también con corticoides, que son antiinflamatorios por excelencia, los más potentes de la actualidad. Estas sustancias actúan a nivel celular estabilizando la membrana lisosómica, inhibiendo la síntesis de los mediadores químicos y reduciendo la permeabilidad vascular (Soares y Goldber, 2004).

Las marcas comerciales que ofrece el mercado son Ledermix (corticoide con tetraciclina), Otosporin (Hidrocortisona con Neomicina) y Dexametasona (Hidrocortisona con Sulfato de polimixina B) (Soares y Goldberg, 2004).

No se ha demostrado científicamente una mayor eficacia de estas sustancias frente al hidróxido de calcio, ni tampoco un sinergismo al ser usados en conjunto, al contrario, ambas sustancias disminuyen su efecto. Asimismo, las presentaciones comerciales son de alto valor y se debe considerar que el uso de corticoides puede dificultar la acción defensora del organismo, dejando el tejido periapical más susceptible a la invasión bacteriana (Soares y Goldberg, 2004; Leonardo, 2005).

1.2 Antisépticos

1.2.1 Yodoformo

Antiséptico antibacteriano de corta duración, tiene poca evidencia su efectividad como medicación intraconducto. Puede provocar reacciones alérgicas (Pitt et al, 2002)

1.2.2 Formaldehídos, paraformaldehídos, paramonoclorofenol alcanforado

- Paramonoclorofenol alcanforado (PMCFA)

Es un antiséptico que se ha utilizado por más de 70 años, pero que actualmente está en desuso, debido a las propiedades que favorecen el uso del hidróxido de Calcio (Leonardo, 2005). Es un muy buen bactericida, pero es tóxico para los tejidos adyacentes, por lo tanto, no se considera como un buen medicamento (Pitt et al, 2002). Presenta baja tensión superficial, por lo que puede actuar a distancia y avanzar hasta alcanzar el periapice (Leonardo, 2005).

Tiene doble acción antiséptica, en su grupo fenol y en el ion cloro que se libera lentamente durante su uso. El alcanfor es el vehículo, pero también disminuye la citotoxicidad del compuesto, aún así, ésta es mayor que otros agentes. No neutraliza los productos tóxicos bacterianos, solamente las bacterias. Su acción antibacteriana dura 24 horas cuando es colocado en una mota de algodón o un cono de papel (Canalda et al, 2001).

- Eugenol

Compuesto fenólico de color amarillo claro, tiene escasa propiedad antiséptica, actúa como sedante y puede inhibir los impulsos nerviosos. Por ser extremadamente irritante, está contraindicado su uso en biopulpectomías, pues puede causar necrosis del tejido periapical e inflamación, retardando la reparación apical. Actualmente tampoco se indica en necropulpectomías, ya que

tiene bajo poder bactericida y ha sido ampliamente superado por otros agentes. (Canalda et al., 2001; Leonardo, 2005)

- Cresadina

Conocida como acetato de metacresilo, es un líquido claro derivado del metacresol, considerado como suave bactericida y sedante, es muy irritante, aunque en menor grado que el PMCFA y el formocresol. (Leonardo, 2005; Soares y Goldberg, 2004).

- Formocresol

Este agente se comenzó a usar en el siglo XVIII, donde se utilizaba en casos de necrosis pulpar. El formaldehido provoca una necrosis lenta y asintomática, produciendo fijación de los tejidos. Se creía que al fijar la pulpa, actuaría como sellador, sin necesidad de utilizar material de relleno y sin afectar la zona periapical. Es el bactericida más potente en contra de los anaerobios que se pueden aislar de un sistema de conductos necrótico, actúa por contacto y a distancia, pero no está aceptado por la FDA ni la ADA, porque puede causar necrosis en los tejidos. (Leonardo, 2005).

En la actualidad, tras un gran número de estudios, se ha determinado una acción muy desfavorable de estos agentes sobre los tejidos vivos del periápice, además, se ha logrado concluir que al aplicarlos forman vapores que son capaces de viajar a través del organismo llegando al hígado, riñón, pulmones, musculatura esquelética, entre otros, provocando grandes alteraciones y asociándose a acciones mutagénicas, lo que implica un riesgo aún mayor. Por lo anterior, no se justifica su uso como medicación intraconducto. (Leonardo, 2005)

A los preparados como cresol y clorofenol se ha atribuido erróneamente un efecto reductor del número de microorganismos y,

en parte, también del dolor. En una comparación riesgo-beneficio, las características tóxicas mantenidas en el tiempo, superan el efecto reductor de microorganismos, que sólo se ha reportado a corto plazo (Pitt et al., 2002; Beer et al, 1998).

1.2.3 Clorhexidina

La clorhexidina es una bis-biguanidina catiónica. La forma más estable es de sal y es comercializada comúnmente como una sal de digluconato por su alta solubilidad en agua (White y cols, 1997).

Hay diferentes formas de utilización clínica de la clorhexidina como son geles, barnices, aerosoles (spray), microchips, chicle, comprimidos, caramelos y seda dental con clorhexidina. Pero la forma más comúnmente usada es en colutorios, donde también existen en distintas concentraciones como: 0,1%; 0,12%; 0,2%; 1%; 2%.

A continuación se enumeran algunas de sus principales características: (White y cols, 1997)

- Peso molecular alto.
- Mala absorción por piel y mucosas.
- Baja toxicidad por su nula o baja permeabilidad
- pH fisiológico 7,4.
- Sustantividad.
- Alto costo.
- Agente antimicrobiano de amplio espectro.
- No colorea la ropa.
- Gran biocompatibilidad
- No presenta mal olor.

La clorhexidina a pH fisiológico 7,4 distribuye su carga positiva sobre los átomos de hidrógeno en ambos lados del puente de

hexametileno y así tiene la habilidad de asociarse a las superficies cargadas negativamente como la hidroxiapatita del esmalte, la película adquirida y las proteínas salivales (Jones, C. G, 1997).

Su acción es por la interacción de la carga positiva con la negativa de los grupos fosfato de la pared celular de los microorganismos, de este modo altera el equilibrio osmótico de las células, aumenta su permeabilidad, permitiendo la entrada de la clorhexidina a la bacteria. En bajas concentraciones, a 0,2% por ejemplo, produce la salida de sodio y potasio de la célula, y en altas, a 2% es bactericida, precipitando el contenido citoplasmático de la célula (Gomes BP et al, 2005).

Una de las características más importantes de este compuesto es la sustantividad, que es la capacidad de mantenerse en las superficies dentales, placa bacteriana y mucosas, proporcionando una liberación en el tiempo. La clorhexidina se absorbe sobre la superficie de los tejidos bucales, incluso los dientes, y luego se libera lentamente en forma activa (Jones, 1997).

Parsons y cols. en 1980 fueron los primeros que estudiaron la sustantividad de la solución de clorhexidina al 0,2% y al 1% tanto en dentina como en esmalte después de 48 y 72 hrs. de la instrumentación radicular en dientes de bovino y concluyeron que fue un potente agente antibacteriano y puede servir como un efectivo irrigante endodóntico (Parson y cols, 1998).

Los resultados de otro estudio indicaron que la clorhexidina puede también ser antimicrobiana cuando es usada dentro de los conductos instrumentados. Más aún, el estudio revela que continúa siendo liberada tanto como 48 a 72 hrs. luego de la instrumentación (White y cols, 1997). Estudios in vitro usando clorhexidina gluconato al 2% como una solución irrigadora durante la instrumentación del conducto radicular han mostrado la eficiencia antimicrobiana y la gran actividad residual, (sustantividad) que llega a 72 hrs. después de la

instrumentación. Esta sustantividad es significativamente mayor que la obtenida en una concentración al 0.12% (White y cols, 1997).

La clorhexidina es activa frente a bacterias gram positivas y gram negativas, hongos, anaerobios facultativos y aerobios, por tanto posee un amplio espectro antibacteriano. Sin embargo, no tiene actividad frente a esporas, microbacterias ni virus. Se ha probado que los organismos gram positivos son más sensibles que los gram negativos y los estreptococos más que los estafilococos. Los *Estafilococos, E. mutans, E. salivarius y E. Coli* tienen alta susceptibilidad (Bascones y Manso, 1994).

En un estudio clínico y de laboratorio donde se evaluó la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio, clorhexidina y PMCFA, como medicamento intraconducto, la solución de clorhexidina mostró actividad antimicrobiana contra todas las cepas bacterianas comúnmente presentes en infecciones endodónticas usadas en las pruebas de difusión agar (Barbosa CA, et al, 1994).

Resultados del estudio de la evaluación de diferentes antimicrobianos sobre anaerobios estrictos, facultativos y microaerofilos, muestran que la clorhexidina al 0,2%, o en una concentración más baja, tuvo un efecto bactericida óptimo sobre bacterias aisladas en conductos radiculares (D' Arcangelo et al, 1999).

Lima et al., el año 2001 probaron la susceptibilidad de las biopelículas de Enterococcus *faecalis* (de 1 y 3 días) a varios medicamentos antimicrobianos: clorhexidina o medicamentos basados en antibióticos. De todos los medicamentos probados, sólo los medicamentos que contienen clorhexidina al 2% fueron capaces de eliminar completamente la mayoría de las biopelículas de *E. faecalis* de 1 y 3 días.

White probó in vitro que el efecto antimicrobiano de la clorhexidina al 2% era equivalente al logrado con el hipoclorito de sodio al 5,25% (White et al, 1997). Por otro lado, Basrani encontró

también in vitro que el hipoclorito de sodio al 2,5% fue más efectivo que la clorhexidina al 0,12% y al 0,2% (Basrani et al, 2003).

En otro estudio, evaluaron la susceptibilidad de *Candida albicans* a 4 desinfectantes (yodo-potasio, clorhexidina, hipoclorito de sodio e hidróxido de calcio) y sus combinaciones. Se demostró que el hipoclorito de sodio, el yodo-potasio y el acetato de clorhexidina son más efectivos que el Ca(OH)2 contra la *C. albicans* in vitro. Sin embargo, las combinaciones del Ca(OH)2 con el hipoclorito de sodio o con la clorhexidina podrían proporcionar una preparación antibacterial de amplio espectro con efectos a largo plazo, siendo más efectivas contra la *C. albicans* que el Ca(OH)2 solo. Además se observó que el elevado pH del Ca(OH)2 no es afectado cuando se combina con la clorhexidina o con el yodo-potasio; por lo tanto, estas combinaciones podrían ser útiles en el tratamiento de casos con periodontitis apical persistente. (Waltimo et al, 1999)

La clorhexidina en gel al 2% se ha empleado como medicación en endodoncia con buenos resultados antibacterianos in vitro, en algunos estudios incluso supera el efecto del Hidróxido de calcio, siempre y cuando sea utilizada en concentración al 2%, valores inferiores no tienen eficacia. Se reconoce su buen efecto al mezclarse con Hidróxido de calcio frente al *Enterococo faecalis.* (Canalda et al., 2001)

Sobre el 2% puede significar un aumento en su toxicidad sobre los tejidos periapicales; por otra parte, su acción contra el LPS no es muy estable, por lo tanto no se considera como de primera línea (Leonardo, 2005).

1.2.4 Hidróxido de Calcio

El hidróxido de calcio se consigue a partir de la combustión del carbonato cálcico, donde se obtiene óxido de calcio y anhídrido carbónico. Cuando la primera sustancia se combina con agua se

consigue el hidróxido de calcio. Este es un compuesto inestable, susceptible de combinarse con el dióxido de carbono del aire, transformándose de nuevo en carbonato cálcico (Stock et al., 1997)

En el año 1920, Hermann introdujo el Hidróxido de calcio en la Odontología, con el propósito de encontrar un medicamento que tuviese las ventajas de ser un antiséptico fuerte, sin ser tóxico, para el tratamiento biológico de la pulpa y para la obturación de conductos radiculares. (Leonardo, 2005)

En el año 1940, se realizó el primer trabajo histológico en dientes humanos que demostró la formación de una barrera mineralizada en el ápice radicular, al utilizar hidróxido de calcio, después de la pulpectomía y de la obturación de los conductos radiculares. (Leonardo, 2005)

Al ser utilizado como medicación intraconducto mediante su mezcla con agua destilada o solución salina conformando una pasta es capaz de elevar el pH de la dentina en el tiempo, hasta alcanzar el estado de estabilidad (Haenni et al., 2003).

Este agente libera iones hidroxilo en solución promoviendo la alcalinización del medio, aproximadamente entre 12,5 a 12,8, pH en el cual la mayoría de las bacterias no logra sobrevivir. Además, capta dióxido de carbono necesario para el desarrollo de especies bacterianas capnofílicas e hidroliza la fracción lipídica del LPS, favoreciendo la destrucción bacteriana. (Siqueira et al., 1999; Estrela, 2005; Baik et al, 2011)

El alto pH del hidróxido de calcio presenta un efecto destructivo sobre las membranas celulares bacterianas y sus proteínas estructurales. Es bien tolerado y, por lo general, se reabsorbe a nivel del ápice (Souza et al, 2009).

Se estudiaron los cambios de pH en la dentina después de colocar hidróxido de calcio y se observó que los iones de hidroxilo y calcio pueden difundir a través de la dentina y el tejido pulpar remanente. Esto ocasiona un aumento de pH en la dentina después

de la medicación, sin embargo, estos valores disminuyen en las áreas más alejadas del conducto radicular. La pobre penetración de iones a distancia dentro de la dentina es probable que se deba a la propiedad buffer de los iones hidrógeno de la hidroxiapatita y otros compuestos de la dentina (Calt S y cols 1999).

Este compuesto se debe disolver en un vehículo. Se considera que el vehículo ideal debe (Fava y cols, 1999):

1. Permitir una disociación lenta y gradual de los iones calcio e hidroxilo.
2. Permitir una liberación lenta en los tejidos, con una solubilidad baja en sus fluidos.
3. No tener un efecto adverso en su acción de favorecer la aposición de tejidos calcificados.

El hidróxido de calcio se utiliza mezclado con tres tipos principales de vehículos:

1. Acuosos. El más usado es el agua, aunque también se ha empleado solución salina, solución de metilcelulosa, anestésicos y otras soluciones acuosas. Esta forma de preparación permite una liberación rápida de iones, solubilizándose con relativa rapidez en los tejidos y siendo reabsorbido por los macrófagos.

2. Viscosos. Se han empleado glicerina, polietilenglicol y propilenglicol con el objetivo de disminuir la solubilidad de la pasta y prolongar la liberación iónica.

3. Aceites. Se han usado aceite de oliva, de silicona y diversos ácidos grasos, como el oleico y el linoleico, para retardar aun más la liberación iónica y permitir esta acción en el interior de los conductos radiculares

> durante períodos prolongados de tiempo sin necesidad de renovar la medicación. (Fava y cols, 1999)

Siqueira y de Uzeda evaluaron el efecto antibacteriano sobre varios tipos de bacterias comunes en infecciones endodónticas del hidróxido de calcio cuando fue mezclado con 3 diferentes vehículos (solución salina al 0,85%, glicerina, PMCFA y glicerina). Se obtuvo que todas las pastas fueron efectivas contra las bacterias probadas (*Porphyromonas endodontalis, Prevotella intermedia, Streptococcus sanguis, Enterococcus faecalis*) pero en tiempos diferentes. La pasta de hidróxido de calcio y PMCF alcanforado con glicerina fue la más efectiva contra los 4 tipos de bacterias. Estos hallazgos indican que el PMCFA incrementa la actividad antibacteriana de la pasta de hidróxido de calcio. Esta pasta posee un alto radio de acción eliminando las bacterias localizadas en las regiones más distantes del sitio donde se aplicó. Se piensa que el PMCFA no debe ser considerado un vehículo sino más bien, un medicamento adicional y que probablemente el hidróxido de calcio podría prevenir o reducir la penetración del PMCFA al tejido perirradicular y reducir así su citotoxicidad. (Siqueira et al, 1998)

En los casos clínicos en que se utiliza el hidróxido de calcio por un periodo breve (7 días), se prefiere en vehículo acuoso, ya que es de más rápida liberación y más fácil eliminación (Canalda et al., 2001; Pitt et al., 2002).

El hidróxido de calcio no produce tinción dental, ni afecta a los tejidos o materiales de obturación, además ayuda a resolver cuadros supurativos gracias a la eliminación de la infección residual e inactivación de toxinas. (Canalda et al., 2001; Pitt et al, 2002)

Es muy popular como medicación intraconducto ya que es muy eficiente contra la mayoría de los patógenos del sistema de conductos radiculares. Actúa por contacto directo y es antiinflamatorio por ser higroscópico. Esto le da características antibacterianas y formador de tejidos calcificados, estimula los fibroblastos, promoviendo la cicatrización (Haenni et al., 2003). Este último punto es muy importante, ya que además de favorecer la reparación hística también facilita la aposición de tejidos calcificados, se cree que esto se debe a la conjunción de un pH alto, provocado por la liberación de los iones de hidroxilo junto con la presencia de iones de calcio, lo que crea un ambiente favorable para conseguir la reparación apical y periapical (Canalda et al., 2001)

La duración del efecto antimicrobiano depende de la concentración y volumen de la pasta, pero se considera que es duradero. Este material es irritante si se extravasa y puede producir una necrosis localizada, autolimitante. La extravasación puede ir acompañada de dolor intenso durante 12 a 24 horas (Canalda et al., 2001; Estrela, 2005). La capacidad del material de producir necrosis localizada puede ayudar a producir una barrera calcificada dura en la unión con los tejidos apicales. El tejido necrótico forma la matriz para la calcificación, por lo cual se utiliza también para procesos de reabsorción y en casos de dientes con ápice incompleto. (Canalda et al., 2001)

A pesar de todas las buenas características que presenta esta sustancia, no puede considerarse como una medicación universal, ya que no es efectivo contra todas las bacterias por igual. (Souza et al, 2009).

El hidróxido de calcio precisa como mínimo una semana para ser efectivo, por lo tanto en dientes con periodontitis, al predominar las bacterias anaerobias estrictas, una medicación con hidróxido de calcio durante una o dos semanas ha demostrado ser eficaz. Sin

embargo, en los fracasos predominan las anaerobias facultativas, especialmente el *Enterococcus faecalis* el cual es bastante resistente a esta medicación. Una investigación determinó que esta bacteria, presente en túbulos dentinarios de conductos inoculados con ella, no era destruida por el hidróxido de calcio en un período de 10 días (Haasapalo M. et al, 1987)

Para evitar las resistencias mencionadas, varios autores han propuesto combinar una solución acuosa o con glicerina de hidróxido de calcio con una moderada proporción de paramonoclorofenol alcanforado, habiéndose obtenido buenos resultados con estas mezclas. (Lima et al, 2001)

Distel et al. evidenciaron la colonización de *Enterococcus faecalis* y la formación de una biopelícula en los conductos radiculares la cual le permite ser resistente a las medicaciones comunes e infectar crónicamente al sistema de conductos (Distel et al, 2002).

Waltimo et al. probaron la susceptibilidad de distintas especies de *Candida* al hidróxido de calcio y se comparó con el *Enterococcus faecalis*. Como resultado se obtuvo que todas las especies de *Candida* mostraron igual o más alta resistencia que el *E. faecalis* al $Ca(OH)^2$ acuoso. Este estudia indica que las *Candida spp* fueron resistentes al $Ca(OH)^2$ in vitro, lo que puede explicar el aislamiento de estas levaduras en casos de periodontitis apical persistente. Esto sugiere la necesidad de una medicación adicional en este tipo de infecciones endodónticas. (Waltimo et al, 1999)

A pesar de todas las buenas características que presenta esta sustancia, no puede considerarse como una medicación universal, ya que no es efectivo contra todas las bacterias por igual. (Souza et al, 2009).

1.2.5 Propóleo

Durante el último tiempo ha crecido el interés por encontrar sustancias naturales con propiedades antimicrobianas, ya que presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En la naturaleza, los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de otras sustancias que van a potenciarse entre sí, de forma tal que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados (Bavestrello P.). Es por esto que hay casi nula citotoxicidad de estos productos y no se generaría resistencia bacteriana como ocurre al usar por ejemplo antibióticos convencionales.

El Propóleo es una mezcla compleja de cera de abeja, azúcar, exudados de plantas colectadas por abejas (*Apis mellifera)* y compuestos de su propio metabolismo (Marcucci, 1995).

La palabra própolis deriva del griego pro, para o en defensa, y polis, la ciudad, es decir, “defensa de la ciudad (o la colmena)”.

En la colmena, el propóleo se usa para cerrar grietas, reducir al mínimo las vías de acceso, recubrir y aislar restos de animales que se hayan introducido en la colmena evitando su descomposición, consolidar componentes estructurales, barnizar el interior de las celdillas con fines desinfectantes y evitar vibraciones (Chaillou LL, 2004).

Es así, que el uso del propóleo por parte del hombre data del año 300 a. de C., época en que ya era utilizado en la elaboración de remedios en la medicina tradicional. Sin embargo, es sólo en los últimos 50 años que se ha realizado la gran mayoría de los estudios tendientes a determinar la composición química, propiedades farmacológicas y en general, el uso farmacológico comercial de los preparados a base de propóleo (Propravko, S. A. 1975).

Como se mencionó anteriormente, el uso del propóleo por parte del hombre viene desde Aristóteles, quien lo menciona como remedio para infecciones de piel y supuraciones. Galeno también lo considera en sus trabajos y el médico y filósofo persa Avicena, decía

que tenía capacidad de eliminar las puntas de flechas. Sin embargo, es solo en los últimos 50 años que se ha realizado la gran mayoría de los estudios tendientes a determinar la composición química, propiedades farmacológicas y en general, el uso farmacológico comercial de los preparados a base de propóleos (Ghisalberti EL, 1979).

Dentro de los productos naturales producidos por las abejas, el propóleo se destaca por sus variadas propiedades biológicas, lo que ha permitido que en los últimos años se haya incrementado su utilización en medicina y en veterinaria. Es por lo tanto, una materia prima valiosa para la industria farmacéutica, de cosméticos y de alimentos (Chaillou, 2004).

- **Composición química**

El propóleo sin procesar consiste en el exudado de plantas recolectadas por las abejas, productos metabólicos secretados por estas mismas y materiales introducidos durante la elaboración del producto (Marcucci, 1995).

El propóleo es una sustancia compleja, constituida por una gran variedad de compuestos químicos, se caracteriza por tener un 55% de resinas y bálsamos aromáticos, 30% de ceras, 10% de aceites esenciales y 5% granos de polen (Granje y cols, 1999)

Una de las propiedades más importante que se le atribuye al propóleo es su actividad antimicrobiana, la cual se le responsabiliza fundamentalmente a los flavonoides, llamados galangina y pinocembrina y a los derivados de los ácidos benzoicos, ferúlico y cafeico. El efecto antibacteriano se observa principalmente sobre los gérmenes gram positivos, pero numerosas bacterias gram negativas también son sensibles (Asis, 1989). Los flavonoides son pigmentos vegetales, sintetizados a partir de la fenilalanina, que generalmente presentan brillantes colores como el de los pétalos de las flores. La

mayoría de las veces emiten fluorescencia cuando son excitados por la luz UV, y se localizan en las células de las plantas verdes. Ellos regulan el crecimiento de las plantas e influencian otras células biológicas de diversas maneras. Los flavonoides inhiben o destruyen muchas especies bacterianas, inhiben importantes enzimas virales, tales como la transcriptasa reversa y otras diversas proteasas, y además, actúan contra algunos importantes protozoos (Havsteen B, 2002). También poseen actividad antialérgica, antiinflamatoria, antioxidante, atrapadora de radicales libres, antimutagénica y moduladora de actividad enzimática. Actúan como agentes quimiopreventivos en cáncer y prevención de ataques al corazón. Su toxicidad a células animales es baja. Cada vez más se está incrementando el uso de flavonoides en estado puro para tratar distintas enfermedades, debido a su comprobada habilidad de inhibir enzimas específicas, simular a algunas hormonas y neurotransmisores, y eliminar radicales libres (Konig, 1985).

Las actividades biológicas de algunos de los más importantes componentes del propóleo son:

- Pinocembrina: posee actividad antibacteriana, fungicida y presenta acción anestésica local (Muñoz et al, 2001).
- Acacetina: tiene propiedades antiinflamatorias (Bankova et al, 1983). Además, recientemente se ha visto que es un poderoso inhibidor de enzimas presentes en el citocromo P450, que estarían involucradas en el metabolismo de los hidrocarburos policíclicos, aromáticos y hormonas. Por ello se especula que estas enzimas tendrían un rol importante en la aparición de algunos tipos de cáncer, más aun, que han sido detectadas en algunas muestras de tejidos cancerígenos (Doodstar et al, 2000).
- Conferido: promisorio agente anticarcinogénico al inducir directamente la quinona reductasa y otras enzimas protectoras,

sin promover la activación de otros carcinógenos (Yannai et al, 1998).

- Galangina: es un flavonoide que presenta actividad antimutagénica, antioxidante, secuestrador de radicales libres y modulador de actividad de enzimas metabólicas, pero se le destaca principalmente como un potente agente quimioprotector frente al cáncer(Heo et al, 2001). Además posee actividad antibacteriana (Montenegro et al, 2001).
- Acido caféico fenil ester: su mecanismo de acción es probablemente la inhibición de la RNA polimerasa bacteriana (Uzel et al, 2005).

- **Características físico químicas**

Chaillou, el año 2004, analizó una muestra de propóleo argentino y determinó:

- Características organolépticas: el 100% presentó una estructura homogénea, 45% de las muestras eran poco blandas, el 40% duras y solamente un 15% blandas. En relación al color, el 65% presentó color café oscuro, un 20% café claro con tintes amarillos, un 10% con tintes castaños. El olor del 75% fue resinoso, y el sabor de la totalidad de los propóleos fue picante.
- Punto de fusión: el promedio de temperatura de fusión de todas las muestras era 70ºC.

- **Actividad biológica**

Se han descrito muchas actividades biológicas para el Propóleo, incluyendo capacidad antibacteriana (Fajuri y cols, 2004; Guzman, 2005; Popova y cols, 2005; Stepanovic, 2003; Gebara y cols, 1996), antifúngica (Sawaya y cols, 2002; Fajuri y cols, 2004), antiviral (Amoros y cols, 1994), antiinflamatoria (Khayyal cols, 2003;

Ivanovska y cols,1995), anticancerígeno (Heo y cols, 2001), anticariogénico (Gispert y cols, 2000; Rosalen y cols, 1998). Incluso se ha sugerido que los flavonoides del propóleo estimulan la formación de dentina reparativa, pudiendo retardar el efecto inflamatorio pulpar al estimular diferentes factores de reparación como el factor transformante de crecimiento y la síntesis de colágeno por parte de las células del tejido remanente. (Sabir y cols., 2005)

Gebara y cols, en 1996, realizaron un estudio para evaluar la capacidad antibacteriana del propóleo frente a bacterias orales de distintas especies, como, *St mutans, St sanguis y A naeslundi*. En todas las especies estudiadas se obtuvo inhibición de crecimiento. (Gebara, 1996)

Fajuri et al, realizaron un estudio también in vitro, pero mediante un test de difusión en agar, para probar la susceptibilidad de *Streptococcus mutans, Porphyromonas gingivalis, Streptococcus pyogenes, Staphapylococus aureus y Candida albicans*, frente a propóleo chileno de la VIII región. En este estudio se encontró que todos estos microorganismos, excepto *Porphyromonas gingivalis*, fueron susceptibles al propóleo. (Fajuri, 2004)

Estudios de susceptibilidad de bacterias cariogénicas frente al propóleo, realizados tanto en Chile como en el extranjero, mostraron inhibición de crecimiento de Streptococcus mutans con valores variables de Concentración Inhibitoria Mínima. (Gebara y cols, 1996; Park, 1998)

- **Mecanismo de Acción**

Kujumgiev et al concluyen, que si bien cada uno de los componentes del propóleo puede presentar una buena actividad,

ninguno de ellos individualmente presenta una actividad mayor que la mezcla de todos ellos formando el compuesto. (Kujumgiev et al, 1999)

Estos resultados están de acuerdo con lo que estudió Takaisikikuni y cols en 1994, quienes observaron que la acción antibacteriana utilizaba varios mecanismos, tales como desorganización del citoplasma, de la membrana plasmática, y de la pared celular, lisis bacteriana parcial, e inhibición de la síntesis de proteínas. Además se observó una inhibición de la división celular en presencia de propóleo, lo que sugirió que el propóleo podría actuar inhibiendo la replicación del DNA a través de la RNA polimerasa y de esta forma afectando la división celular. (Takaisikikuni, et al, 1994).

- **Uso en odontología**

Se ha comprobado, que el propóleo ejerce una acción inhibitoria sobre las metaloproteinasas (MMP`s), que participan en procesos inflamatorios periodontales y también en procesos tumorales. (Hwang HJ, 2005)

Tae-Wook Chung et al determinaron que uno de los componentes del propóleo, (ácido cafeico y su fenil ester de ácido cafeico), es capaz de inhibir tanto la expresión del gen de la MMP-9 como la actividad catalítica de su enzima. (Tae-Wook C, 2004)

Martin et al, compararon la viabilidad de células del ligamento periodontal en dientes avulsionados, del propóleo v/s los vehículos que actualmente son los recomendados, suero, leche y saliva. El resultado mostró que el propóleo mantenía más células viables que los otros compuestos (Martin MP, 2004). Estos resultados son similares a los obtenidos por Saxena y cols en su estudio del año 2011 (Saxena y cols, 2011). De acuerdo a los resultados del estudio de Gjertsen et al, el propóleo disminuye los niveles de apoptosis de

los fibroblastos del ligamento periodontal, comparado con la solución balanceada de Hank, utilizada también comúnmente como medio de transporte de dientes avulsionados. Además, aumenta la actividad enzimática mitocondrial de las células del ligamento. Por eso sugirieron que el propóleo puede ser un medio de almacenamiento beneficioso para dientes avulsionados, no solo incrementando la viabilidad si no que también la salud fisiológica de las células del ligamento periodontal. (Gjertsen et al, 2011)

Gispert et al en el año 2000, fabricaron un dentífrico en base a propóleo y se logro disminuir el índice COPD en el grupo de muestra (Gispert et al, 2000).

Otro estudio, concluyó que al aplicar extracto de propóleo en molares de ratas, la severidad de las lesiones cariosas disminuyó (Rosalen et al, 1998).

Koo el año 2002, realizó un estudio clínico para investigar el efecto del propóleo en la reducción de placa bacteriana, el cual se realizó durante 3 días y el índice de placa se redujo en un 44,7% aproximadamente después del tratamiento, comparado con el placebo. Además, el colutorio redujo la concentración de polisacáridos insolubles en la placa en un 61,7% comparado con el placebo. (Koo, 2002) También determinó que el propóleo es capaz de inhibir la enzima glucosiltransferasa, producida por el *S. mutans,* responsable de catalizar la formación de glucanos solubles e insolubles a partir de sacarosa, y de contribuir significativamente a la formación de la matriz de polisacáridos del biofilm dental (Koo, 2002).

En otra investigación se evaluó la actividad antimicrobiana del propóleo v/s la clorhexidina y se concluyó que el propóleo y la clorhexidina tenían actividad antimicrobiana similar a los 10 minutos, pero luego de este tiempo, el propóleo decaía su acción, no así la

clorhexidina que permaneció activa hasta los 60 minutos que fue evaluada. (Pérez et al, 2006)

- **Reacciones adversas**

Se han descrito muy pocos casos de alergias, principalmente dermatitis de contacto por hipersensibilidad. También hay casos de mucositis orales agudas con ulceraciones generadas al contacto directo con el propóleo (Hay et al, 1990)

- **Propóleo en endodoncia**

En Endodoncia se ha estudiado la acción del propóleo y su actividad antimicrobiana. En un estudio de Valera del 2010, se concluyó que el propóleo es efectivo contra el E.Coli después de la preparación biomecánica. (Valera et al, 2010)

Los resultados anteriores coinciden con otro estudio del 2007 (Ferreira et al, 2007) que comparó su acción antibacteriana contra cepas anaeróbicas (*P. nigrescens, Fusobacterium nucleatum, Actinomyces israelii, Clostridium prerfringens, Enterococus faecalis)* como medicación intraconducto versus hidróxido de calcio, PMCFA, y formocresol y no hubo diferencias significativas en sus resultados.

En un estudio comparativo del efecto a corto plazo del propóleo en comparación con el Hidróxido de calcio sobre la cepa de *Enterococus faecalis* se encontró mejor respuesta a partir del primer día para el primer agente. Esto se justificó debido a que el Hidróxido de calcio actúa a partir de los 7 días, pero en busca de un agente de acción más rápida, el propóleo podría ser una opción viable (Awawdeh et al, 2009). También apoyan estos resultados Oncag y cols, en una investigación in vitro, muy similar, realizada el año 2006 (Oncag O y cols, 2006).

Otra investigación fue realizada el año 2011, consistía en evaluar la capacidad antibacteriana del hidróxido de calcio, el propóleo y una pasta triantibiótica (ciprofloxacino, minociclina, metronidazol) contra el *E. faecalis,* en 1, 2 y 7 días. La pasta antibiótica y el propóleo presentaron el mayor porcentaje de reducción de colonias, pero el propóleo el primer día presentaba un 83% de reducción, y el segundo día un 100%, superando ampliamente a los otros compuestos. Estos autores recomiendan el uso de propóleo como medicación intraconducto a corto plazo (Madhubala y cols, 2011).

Kandaswamy D, el 2010 concluyó que el propóleo era efectivo como antibacteriano contra el *E. faecalis*, por el contrario, la clorhexidina al 2%, la povidona iodada y el hidróxido de calcio no fueron efectivos en intervalos de 1,3 y 5 días (Kandaswamy et al, 2010). Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Kayaoglu y cols, quienes concluyeron que la clorhexidina al 2% tenía un mejor comportamiento en relación a la eliminación de *E. faecalis* que el propóleo (Kayaoglu, et al, 2011)

Rezende y cols, realizaron un estudio preliminar, donde inocularon bacterias de molares necróticos y evaluaron la zona de inhibición bacteriana de pasta de propóleo mezclado con hidróxido de calcio, versus pasta de hidróxido de calcio con suero, resultado la primera un halo de inhibición mayor. Estos autores señalan que la mezcla de propóleo con hidróxido de calcio podría incrementar la acción de cada uno por separado, esto, sumado a su baja toxicidad, aumentaría su potencial indicación en endodoncia. (Rezende et al, 2008)

En relación al grado de daño tisular producido por el propóleo, el año 2004, se realizó una investigación donde se comparó el grado de inflamación producido por el propóleo, el Otosporin y el suero en

ratones, y se evidenció, que el propóleo presentó el valor más bajo de exudado inflamatorio, por lo que se concluye que es la solución menos irritante (Silva FB et al, 2004).

Otro autor, evaluó in vitro la citotoxicidad sobre fibroblastos, células del ligamento periodontal, y de la pulpa, de medicaciones intraconductos, el propóleo logró toxicidad 10 veces menor que el hidróxido de calcio (Al-Shaher A, 2004).

Un estudio de Parolia y cols, realizado el 2010, utilizó el propóleo como recubrimiento pulpar, en dientes in vivo, comparándolo con MTA, y Dycal ®, observando la respuesta histológica pulpar y la formación de un puente dentinario en 15 y 45 días. Los resultados mostraban que los tres materiales tenían resultados similares, en las muestras con propóleo se observó menor inflamación y sí había formación de puente dentinario (Parolia y cols, 2010). Los mismos resultados obtuvieron Lima y cols, en su estudio del año 2011 (Lima et al, 2011).

En relación al mismo tema, Sabir A y cols, determinaron con su investigación que el recubrimiento pulpar directo con propóleo con flavonoides retrasan la respuesta inflamatoria en la pulpa y estimula la formación de un puente dentinario, al compararlo con un propóleo sin flavonoides. Esto podría deberse a que el propóleo activa factores de reparación como el factor transformante de crecimiento y la síntesis de colágeno por parte de las células del tejido remanente (Sabir A y cols, 2005).

Un reciente estudio in vivo del año 2012, evaluó histológicamente la inflamación del tejido periapical frente a la medicación intraconducto con una pasta con antibióticos y corticoides, propóleo, y sin medicación. Los resultados apoyan el uso de propóleo como medicación intraconducto, debido a la baja respuesta inflamatoria de los tejidos periapicales (Ramos y cols, 2012)

III. REPORTE DE CASO CLÍNICO

Paciente sexo femenino 56 años, sin antecedentes mórbidos de relevancia, asiste a la Unidad clínica de Examen y Atención para el Tratamiento (UCEOT) de la facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso, por una fístula palatina en el diente 2.6, no presenta dolor. Clínicamente hay una amalgama oclusal en mal estado. La paciente tiene mala higiene oral, múltiples obturaciones, tinciones, desgastes y fracturas en los márgenes incisales de los dientes anteriores. Radiográficamente, se observa un sistema de conductos obliterado, con curvaturas apicales. También hay presencia de lesión apical radiográfica.

Fig. 9: Foto intraoral paciente

Fig. 10: Fístula palatina diente 2.6

Fig. 11: Radiografía de estudio diente 2.6

El protocolo de atención fue el siguiente, en la primera sesión, se hizo el ingreso de la paciente, se realizó la ficha clínica y el presupuesto. Luego,

se aplicó anestesia infiltrativa al 2% con epinefrina. Se realizó la eliminación total de caries y restauración infiltrada. Luego se colocó el aislamiento absoluto y se realizó la apertura cameral con una fresa redonda de alta velocidad, al llegar a la cámara se exploró con una lima K 10, ya que el conducto era muy estrecho y se irrigó con suero. Se obtuvo una muestra del conducto para determinar el nº de UFC basal de cada diente (Ver anexo procesamiento de muestras). Se irrigó durante todo el tratamiento con hipoclorito de Sodio al 5,25% abundantemente. Se instrumentó con fresas Gates Gliden a 2/3 de la longitud de estudio, sin ejercer presión. Se determinó la longitud de trabajo con el localizador apical electrónico Propex II de Dentsply ®. Conducto P, DV y MV y se instrumentó a dicha longitud con limas rotatorias ProTaper de Dentsply ® hasta la lima apical maestra (MAF) que en este caso correspondió a la lima F3 en los conductos vestibulares y una lima manual níquel titanio nº45, en el conducto palatino, irrigando abundantemente con hipoclorito de sodio al 5,25% entre cada lima, hasta finalizar la preparación biomecánica. Posterior a eso se irrigó según el protocolo de irrigación de la Universidad de Valparaíso de la siguiente manera: hipoclorito de sodio al 5,25%, luego suero, EDTA al 17%, (durante un minuto) nuevamente hipoclorito de sodio al 5,25%, y finalmente un abundante enjuague con suero. Se colocó la medicación intraconducto de propóleo líquido (fig.15) (Extracto etanólico de propóleo al 20%, Apitel ®). Con una jeringa de irrigación se introdujo el líquido dentro del sistema de conductos y luego se colocó una mota estéril en la cámara pulpar. El sellado cameral se realizó con un cemento de obturación temporal (Coltosol ®). Finalmente se ajustó la oclusión y se dieron las indicaciones pertinentes al paciente.

Procesamiento de muestras

Se tomó una muestra con un cono de papel estéril nº25 por 25 segundos. Este cono se depositó en un tubo de ensayo con 1 mL. de suero

fisiológico y se colocó en un agitador Vortex Mixer durante un minuto. Se hicieron diluciones 10^1 hasta $10^{4.}$ Es decir, que esta muestra se diluyó en cuatro tubos de ensayo con 9 mL de suero fisiológico estéril cada uno, todas agitadas en Vortex Mixer (De la Maza y Torres 2006). Cada dilución se sembró en placas Petri de agar cerebro-soya (rotuladas con la concentración de la dilución) y se incubaron por 24 horas en una cámara de cultivo a 37ºC. Además se sembró una placa sin dilución. Luego se realizó un recuento de unidades formadoras de colonias utilizando una unidad contadora de colonias de Quèbec. Esta etapa se hizo con la ayuda del Dr. Jorge Torres y los protocolos de siembre también.

Fig. 12: Cono de papel estéril tomando muestra microbiológica del conducto

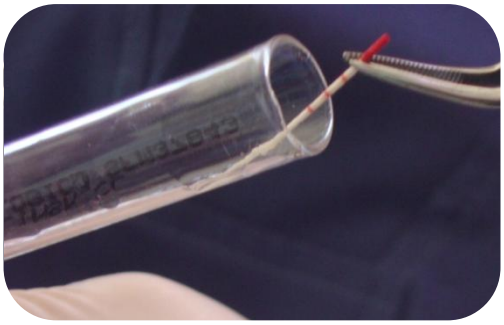

Fig. 13: Cono de papel estéril en tubo de ensayo con suero

Fig. 14: Extracto etanólico de propóleo al 20% Apitel.

Fig. 15: Tubo de ensayo en agitador Vortex Mixer

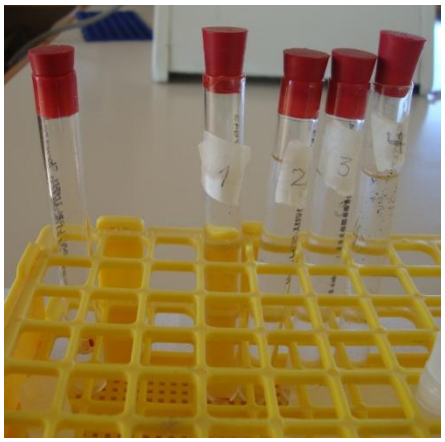

Fig. 16: Tubos de ensayo para diluciones

Fig. 17: Siembra de cultivo en placa petri

Fig. 18: Placas petri en cámara de cultivo

En la segunda sesión de tratamiento (14 días después), se procedió a realizar un acucioso examen clínico, acerca de la sintomatología presente, que en este caso resultó nula, la fístula ya no se encontraba activa. Luego,

se procedió a realizar el aislamiento absoluto, eliminar la obturación temporal y el algodón de la cámara pulpar. Se obtuvo una segunda muestra del conducto y se procedió de la misma forma detallada anteriormente. (De la Maza y Torres, 2006). Luego de esto se obtuvo el recuento posterior de UFC. Se repasó la PBM y finalmente se obturó el sistema de conductos con conos de gutapercha con la técnica de condensación lateral y cemento Top Seal ®, previamente se realizó el protocolo de irrigación de la Universidad de Valparaíso mencionado anteriormente, y finalmente se hizo un sellado coronario con cemento ionómero de vidrio.

En la sesión de control se realizó un examen clínico y radiográfico, donde el diente estaba asintomático y sin presencia de fístula y la radiografía mostraba una obturación endodóntica correcta.

Fig.19: Control clínico diente 2.6 con ausencia de fístula.

Fig.20: Control radiográfico diente 2.6

Al comparar el número de UFC previo y posterior a la medicación con extracto etanólico de propóleo al 20%, se puede observar una disminución en el número de éstas luego de la medicación intraconducto.

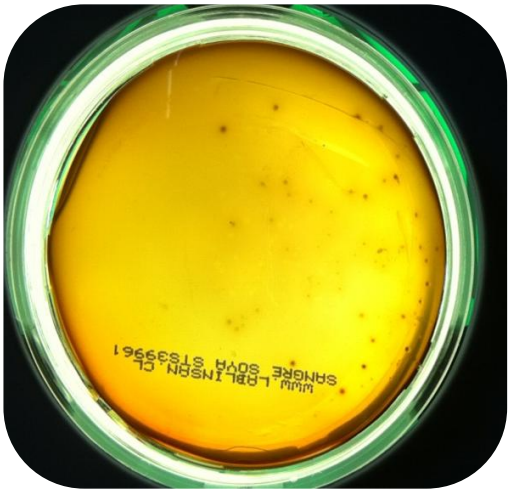

Fig. 21: Cultivo previo a la medicación

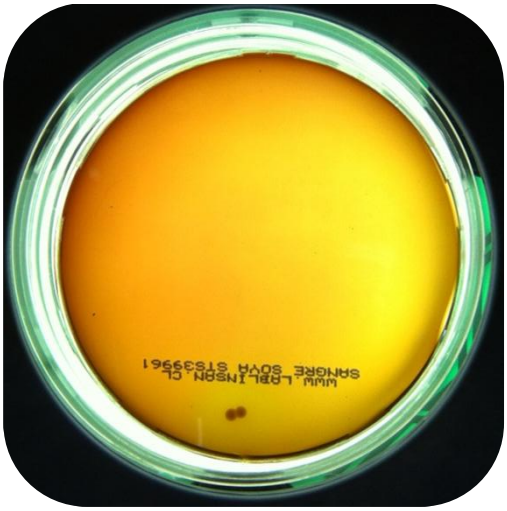

Fig. 22: Cultivo posterior a la medicación

C O N C L U S I O N E S

Según la revisión de la bibliografía realizada se podría sugerir la utilización de propóleo como medicación intraconducto. Debido a sus propiedades antibacterianas (Fajuri y cols, 2004; Guzman, 2005; Popova y cols, 2005; Stepanovic, 2006), antifúngica (Sawaya y cols, 2002; Fajuri y cols, 2004), antiviral (Amoros y cols, 1994), antiinflamatoria (Khayyaly cols, 2003; Ivanovska y cols,1995), anticancerígeno (Heo y cols, 2001), anticariogénico (Gispert y cols, 2000; Rosalen y cols, 1998), a su origen natural y casi nula reacción inflamatoria histológica en el tejido periapical (Ramos y cols, 2012), se puede considerar este compuesto como una alternativa terapéutica.

Lo obtenido como resultado en esta experiencia clínica, coincide con lo obtenido por otros autores, reafirmando su excelente acción antibacteriana, específicamente sobre la microbiota endodóntica, presente en dientes con necrosis pulpar (Kandaswamy y cols, 2010; Kayaoglu y cols, 2011).

Incluso, Awawdeh y Oncag, en sus estudios obtuvieron una ventaja del propóleo versus el hidróxido de calcio, como antibacterianos frente al *E. faecalis.* Esta, sería una de las mayores ventajas del propóleo, dejándolo en mejor posición que el hidróxido de calcio que es actualmente la medicación intraconducto de elección para la mayoría de los casos (Awawdeh et al, 2009) (Oncag O y cols, 2006).

Autores como Madhubala recomiendan el uso de propóleo como medicación intraconducto a corto plazo. En su investigación in vitro obtuvo que el propóleo ejercía su acción antibacteriana contra el *E.faecalis* más rápidamente que otros compuestos, ya que al segundo día había eliminado un 100% de la carga bacteriana (Madhubala y cols, 2011). Esta sería otra ventaja versus el hidróxido de calcio ya que éste necesita al menos 7 días para ejercer su acción.

Waltimo en su estudio del año 1999 sugiere la necesidad de una medicación adicional en el caso de periodontitis apical persistente. El aisló *Candida* en este tipo de cuadros, la que resultó resistente al $Ca(OH)^2$ in vitro (Waltimo et al, 1999). El propóleo tiene acción antifúngica (Sawaya y cols, 2002; Fajuri y cols, 2004). Esta acción biológica sería otra razón por la que el propóleo puede ser una alternativa viable como medicación en infecciones que no remiten.

El comportamiento del propóleo evidenciado en la experiencia clínica mencionada, es similar al de la clorhexidina, se utiliza en una jeringa y se humedecen los conductos y una mota de algodón se coloca en el piso de la cámara, para retirar el medicamento no se tuvo mayor dificultad que la requerida para la eliminación, por ejemplo, del hidróxido de calcio. A pesar de tener un color oscuro, no hubo tinción de la cámara, ni la corona del diente. Victorino y cols, realizaron un estudio en donde evaluaban la dificultad de la eliminación de pastas de hidróxido de calcio y de propóleo y no obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre estas, por eso los autores mencionan que el propóleo presenta características físicas aceptables para ser usado como medicación intraconducto. (Victorino y cols, 2010).

Debido al tipo de cultivo utilizado en esta experiencia clínica, se presume que solamente se incubaron bacterias anaerobias facultativas presentes en conductos necróticos (*E faecalis, Streptococcus spp)*, sería de gran utilidad diseñar una investigación con cultivos anaerobios, o realizar métodos más modernos de identificación genética bacteriana, para evaluar la acción antibacteriana del propóleo.

Se sugieren nuevos estudios, comparando, por ejemplo, el sinergismo del propóleo con el hidróxido de calcio in vivo, ya que in vitro Rezende y cols obtuvieron buenos resultados, generando un halo de inhibición mayor en la combinación de estos compuestos, al compararlo con la acción del hidróxido de calcio con suero (Rezende y cols, 2008).

También se sugiere un estudio de casos controlado, con una muestra mayor, para obtener resultados estadísticamente significativos.

Igualmente, sería importante evaluar el comportamiento del propóleo en la adhesión del cemento sellador a las paredes dentinarias y también evaluar si existe microinfiltración una vez utilizado. Es necesario mencionar que aún existe poca bibliografía con respecto al tema del propóleo, en especial estudios in vivo, ya sea como medicación o irrigación.

Finalmente, gracias a la revisión bibliográfica realizada, se puede concluir que el propóleo posee propiedades beneficiosas para el quehacer de la endodoncia, especialmente como medicación intraconducto, se sugiere la utilización de este compuesto natural y se deja la inquietud para futuras investigaciones en esta área.

R E S U M E N

En la actualidad, es conocida la relación directa de las infecciones bacterianas con los problemas endodónticos. En 1980 W.D.Moller fue el primero en asociar la presencia de bacterias con la enfermedad pulpar. También se sabe que toda infección endodóntica es polimicrobiana, ya que se requiere la sinergia de los microorganismos aerobios y la producción de algunos nutrientes específicos para la supervivencia de otros (Sundqvist, 1992).

Por esta razón, el objetivo principal de un tratamiento de endodoncia es limpiar y desinfectar el sistema de conductos y prevenir la infección o sobreinfección de los tejidos periapicales

No hay evidencia científica concluyente de que sólo la instrumentación biomecánica sea suficiente para la eliminación o disminución de bacterias del sistema de conductos (Leonardo, 2005). Es más, Peters y cols., mostraron que los instrumentos, durante la PBM, sin importar la técnica utilizada, nunca tocan más del 35% de la superficie total del sistema de conductos (Peters y cols, 2001). Es así, como cualquier resto de tejido orgánico, puede actuar como nutriente para organismos patógenos que pudieran permanecer, desencadenando un fracaso en el tratamiento de endodoncia (Leonardo, 2005).

Se puede decir, finalmente, que el objetivo principal del tratamiento endodóntico es la disminución de la carga bacteriana, dejándola a nivel mínimo. Para lograr la eliminación de estos microorganismos es que se justifica el uso de medicación intraconducto entre sesiones en conductos necróticos (Mohammadi, 2009).

Se puede definir, entonces, la medicación intraconducto como la colocación de un fármaco en el interior del sistema de conductos entre las sesiones que sean necesarias para la conclusión del tratamiento

endodóntico con el objetivo de promover la desinfección o erradicación de microorganismos en los túbulos dentinarios (Soares, 2002).

Durante el último tiempo ha crecido el interés por encontrar sustancias naturales con propiedades antimicrobianas, ya que presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En la naturaleza, los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de otras sustancias que van a potenciarse entre sí, de forma tal que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables son limitados (Bavestrello P.).

El Propóleo es una mezcla compleja de cera de abeja, azúcar, exudados de plantas colectadas por abejas (*Apis mellifera)* y compuestos de su propio metabolismo (Marcucci, 1995).

Los flavonoides, uno de los compuestos principales del propóleo, inhiben o destruyen muchas especies bacterianas, inhiben importantes enzimas virales, tales como la transcriptasa reversa y otras diversas proteasas, y además, actúan contra algunos importantes protozoos (Havsteen B, 2002).

Se han descrito muchas actividades biológicas para el Propóleo, incluyendo capacidad antibacteriana (Fajuri y cols, 2004; Guzman, 2005; Popova y cols, 2005; Stepanovic, 2003; Gebara y cols, 1996), antifúngica (Sawaya y cols, 2002; Fajuri y cols, 2004), antiviral (Amoros y cols, 1994), antiinflamatoria (Khayyal cols, 2003; Ivanovska y cols,1995), anticancerígeno (Heo y cols, 2001), anticariogénico (Gispert y cols, 2000; Rosalen y cols, 1998).

En el caso clínico que se presenta en este trabajo se utilizó medicación intraconducto de extracto de propóleo al 20% (Apitel ®) en un diente que presentaba diagnóstico de necrosis pulpar. Se tomaron cultivos bacterianos antes y después de la medicación, y se observó la disminución

de las Unidades Formadoras de Colonias luego de la utilización del propóleo.

Lo obtenido como resultado en esta experiencia clínica, coincide con lo obtenido por otros autores, reafirmando su excelente acción antibacteriana, específicamente sobre la microbiota endodóntica, presente en dientes con necrosis pulpar (Kandaswamy y cols, 2010; Kayaoglu y cols, 2011).

Awawdeh y Oncag, en sus estudios obtuvieron una ventaja del propóleo versus el hidróxido de calcio, como antibacterianos frente al *E. faecalis.* Esta, sería una de las mayores ventajas del propóleo, dejándolo en mejor posición que el hidróxido de calcio que es actualmente la medicación intraconducto de elección (Awawdeh et al, 2009) (Oncag O y cols, 2006).

Gracias a la revisión bibliográfica realizada, se puede concluir que el propóleo posee propiedades beneficiosas para el quehacer de la endodoncia, especialmente como medicación intraconducto, se sugiere la utilización de este compuesto natural y se deja la inquietud para futuras investigaciones en esta área.

BI B L I O G R A F I A

Textos

- Bavestrello P. Introducción a la Fitoterapia. Universidad Católica de Chile.
- Beer R, Baumann M (1998): Atlas de Endodoncia. Cap.10: Desinfección. Pp-145-164.
- Canalda C, Brau E (2001): Técnicas clínicas y Bases científicas.Cap.16: Medicación intraconducto. Editorial Masson. Pp: 199-205.
- Cohen S., Hargreaves K. (2011) Vías de la Pulpa, editorial Elsevier Mosby, 10º edición, España.
- De Lorenzo M. (2004). Microbiología para estudiantes de odontología. Ed. Ateneo, Sao Paulo, Brasil.
- Estrela C. (2005): Ciencia Endodóntica.Cap.12: Hidróxido de Calcio. Pp 457-474.
- Fraile, Manuel de la Rosa. (2003) Microbiología en ciencias de la salud, conceptos y aplicaciones. Elsevier, España
- Leonardo R (2005): Endodoncia: Tratamiento de conductos radiculares. Principios Técnicos y Biológicos.
- Liébana U. (2002) Microbiología Oral. Segunda Edición, McGRaw-Hill, México.
- Pitt T, Rhodes J (2002): Endodontics problems solving in clinical practice. Cap.8: Irrigación y medicación. Pp:111-119
- Siqueira Jr (1997). Tratamiento das infeccoes endodónticas, Río de Janeiro. Editorial Médica y Científica.
- Soares, Goldberg (2004): Endodoncia. Técnicas y fundamentos. Editores: Soares y Goldberg, 1° edición. Editorial Panamericana, Buenos Aires. Argentina: Cap.8: Procedimientos químicos auxiliares de la preparación quirúrgica.
- Stock C, Gulabivala K (1996): Atlas de color y texto de Endodoncia. Segunda edición. Cap. 8: Medicación intraductal y obturación temporal. Pp:145-151.
- Walton R, Torabinejad M. (1996) Endodoncia, Principios y práctica. Segunda Edicion, McGraw-Hill, México.

Artículos

- Al-Shaher A, Wallace J, Agarwal S, Bretz W, Baugh D. (2004) Effect of propolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. J Endod. 2004 May;30(5):359-61.

- Asís, M. (1989) Los productos de la colmena.- Centro de información y documentación, Agropecuario. Cap. 4. Vedado, La Habana, Cuba,. p 45 – 52.
- Adriaens P, Boever JA, Loeche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontal deseased teeth in humans. Journal of Periodontology, 59:222
- Aguilar T (2004). Aspectos Microbiológicos de la periodontitis apical crónica persistente. Universidad Central Venezuela.
- Amoros M, Lurton E, Boustic J, Sauvager F, Cormier M. (1994). Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-enyl caffeate. J Nat Prod 57: 644-647
- Arroyo M (2000). Determinacion de las bacterias más frecuentes en abscesos dentoalveolares agudos. UNMSM, Lima Peru
- Awawdeh, L, AL-Beitawi M, and Hammad M (2009) Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short-term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: A laboratory study Aust Endod J 2009; 35: 52–58
- Baik J, Jang K (2011): Calcium hydroxide inactivates lipoteichoic acid from Enterococcus faecalis through deacylation of the lipid moiety. JOE vo.37, n°2, Feb.2011. Pp:191-196
- Barbosa CA, Gonçalves RB, Siqueira JF Jr, De Uzeda M (1997). Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. J Endod. 1997 May;23(5):297-300.
- Bascones, A., Manso, F. J. (1994): Tratamiento antifúngico. Infecciones orofaciales. Diagnósticoy Tratamiento. Ed. Avances Médico-Dentales. Madrid. 1994; 205-216.
- Basrani B, Tjäderhance L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP et al. (2003) Efficacy of chlorhexidine and calcium hydroxide containing medicaments against Enterococcus faecalis in vitro. Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod 2003; 96: 618-624.
- Baumgartner J, Watkins B, Bae K, Xia T. (1999). Association of black pigmented bacteria with endodontic infections. J Endod 25(6): 413-15
- Calt S, Serper A, Ozçelik B, Dalat MD. (1999) pH changes and calcium ion diffusion from calcium hydroxide dressing materials through root dentin. J Endod. 1999 May;25(5):329-31
- Castrillon L, Palma A, Padilla C (2005). Factores de virulencia de *Candida spp.* Dermatología Rev, México 49: 12-27.
- Chaillou LL (2004). Estudio del Propoleos de Santiago del Estero. Argentina. Cienc Tecnol Aliment Campinas 24(1): 011-015
- Chávez de Paz Luis (2007) Redefining the Persistent Infection in Root Canals: Possible Role of Biofilm Communities, Diario de Endodoncia, Vol33, Número 6 , junio 2007, páginas 652-662.

- Chávez de Paz, Luis E., (2012) Development of a Multispecies Biofilm Community by Four Root Canal Bacteria. Journal of Endodontics Volume 38, Issue 3, March 2012, Pages 318–323.
- D'Arcangelo C, Varvara G, De Fazio P.(1999) An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. J Endod. 1999 May;25(5):351-3.
- Debelian G (1995). Bacteriemia in conjunction with Endodontic Therapy. Endodontic and dental traumatology. Pp11 (3) :142-49
- De la Maza Francisco Javier y Torres Jorge (2006) Evaluación de la Eficacia Antimicrobiana del Hidróxido de Calcio en cuatro diferentes vehículos frente al Enterococcus Faecalis. Trabajo de investigacion requisito para optar al titulo de Cirujano Dentista, Universidad de Valparaíso.
- Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ.(2002) Biofilm formation in medicated root canals. J Endod. 2002 Oct;28(10):689-93.
- Doodstar H, Burke MD & Mayer RT. (2000). Bioflavonoids: selective substrates and inhibitors for cytocromes P450 CYP1 and CYPB1. Toxicology 144: 31-38
- Evans M, Davies J, Sundqvist G, Figdor D (2002). Mechanisms involved in the resistence of *E faecalis* to calcium hydroxide. Int Endod J, 35(3):221-8
- Fajuri M, Huerta J, Silva N. (2004). Eficacia del propoleo chileno como antimicrobiano contra microorganismos de interes en Odontologia. Trabajo de Investigacion para optar al titulo de cirujano dentista. Facultad de Odontologia, Universidad de Chile
- Ferreira,,Flaviana Bombarda de Andrade y otros (2007) Antimicrobial effect of propolis and other substances against selected endodontic pathogensOral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007;104:709-16
- Gebara E, Zardetto C, Mayer M. (1996). In Vitro" study of the antimicrobial activity of natural substances against S. mutans and S, sobrinus. Rev Odontol Univ Sao Paulo 10: 251-256
- Gispert E, Cantillo E, Rivero A, Padron M. (2000). Actividad anticaries de una crema dental con propoleos. Rev Cubana Estomatol 37(3): 166-170
- Gjertsen Anjanette W., DDS, MS,a Karen A. Stothz, PhD,b Kathleen G. Neiva, DDS, PhD,c and Roberta Pileggi, DDS, MS,c Houston, TX, and Gainesville, FL (2011) Effect of propolis on proliferation and apoptosis of periodontal ligament fibroblasts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2011;112:843-848
- Ghisalberti, E.L. (1979): Propolis: A Review. Bee Wld., 60(2): 59-84.
- Gilbert P, Das J, Foley I.(1997) Biofilms susceptibility to antimicrobials. Adv. Dent. Res, 1997, 11:160-67.

- Gomes B, Drucker D (1996). Associations of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. Inter Endodontic Journal. 27:6
- Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ.(2005) Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro. Int Endod J. 2005 Apr;36(4):267-75
- Grange, J.M.; Davey, R.W. (1990). Antibacterial properties of propolis. *J. of the Royal Society of Medicine*. 83(3):2-6.
- Guzman D. (2005). Actividad antimicrobiana se propoleos frente a Streptococcus mutans: estudio in vitro. Trabajo de investigacion para optar al titulo de cirujano dentista. Facultad de Odontologia, Universidad de Chile
- Haapasalo MP, Siren EK, , Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. (1997) Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. Int Endod J. 1997 Mar;30(2):91-5
- Haenni S, Schmidlin P (2003): Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. Int End Jour. 2003. 36:100-105.
- Hancock H, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J (2001). Bacteria isolated after unsuccsseful endodontic treatment in a north American population. Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 91(5): 579-86
- Havsteen B. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & Therapeutics 96(2-3) 67-202
- Hay KD, Greig DE. (1990). Propolis allergy: a cause of oral mucositis with ulceration. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 70(5): 584-6
- Heo MY, Sohin J & Au W. (2001). Anti-genotoxity of galangin as a cancer
  chemopreventive agent candidate. Mutat Res 488: 135-150
- Hwang HJ, Park HJ, Chung HJ, Min HY, Park EJ, Hong JY, Lee S.K. (2005).
  Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on cancer cell metastasis mediated by the down-regulation of matrix metalloproteinase expression in human HT1080 fibrosarcoma cells. J Nutr Biochem Oct. 5
- Ivanovska N, Dimov V, Bankova V, Popov S. (1995). Inmunomodulatory action of propolis. VI. Influence of a water soluble derivative on complement activity in vivo. J Ethnopharmacol 47: 145-147
- Jones, C. G. (1997) Chlorhexidine: is it still the gold standard? Periodontology 2000 15, 55–62.
- Kakehashi S, Stanley H, Fitzgerald R (1965). The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 20: 340-9.

- Kandaswamy, N. Venkateshbabu1, D. Gogulnath1 & A. J. Kindo (2010) Dentinal tubule disinfection with 2% chlorhexidine gel, propolis, morinda citrifolia juice, 2% povidone iodine, and calcium hydroxide International Endodontic Journal, 43, 419– 423, 2010
- Kayaoglu Guven y cols (2011) Antibacterial Activity of Propolis versus Conventional Endodontic Disinfectants against Enterococcus faecalis in Infected Dentinal Tubules J Endod 2011;37:376–381
- Khayyal MT, el-Ghazaly MA, el-Khatib AS. (1993). Mechanisms involved in
  the antiinflammatory effect of propolis extract. Drugs Exp Clin Res 19(5): 197-203
- Konig B. (1985). Plant sources of propolis. Bee world 66(136): 136-139
- Koo H. (2002). Effect of a moutrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccaride formation. Caries Res 36(6): 445-449
- Kujumgiev A, Tsevetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R & Popov S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. J Ethnopharmacolol 64: 235-240
- Lima RV, Esmeraldo MR, de Carvalho MG, de Oliveira PT, de Carvalho RA, da Silva FL Jr, de Brito Costa EM.(2011) Pulp repair after pulpotomy using different pulp capping agents: a comparative histologic analysis. Pediatr Dent. 2011 Jan-Feb;33(1):14-8.
- Love RM, Jenkinson HF.(2002) Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. Crit Rev Oral Biol Med. 2002;13(2):171-83.
- Marcucci MC (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie 26: 83-89
- Martin MP, Pileggi R. (2004). A quantitative analysis of propolis: a promising new storage media following avulsion. Dental traumatology 20: 85-89
- Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T (1998). Microbiological status of root filled teeth with apical periodontitis. Int End Journal 31(1): 1-7
- Mohammadi Z, Abbott P (2009): The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. Int Endod Jour, 2009.42:288-302.
- Peters OA, Laib A, Göhring TN, Barbakow F.(2001) Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. J Endod. Jan;27(1):1-6
- Madhubala MM, Srinivasan N, and Ahamed S (2011) Comparative Evaluation of Propolis and Triantibiotic Mixture as an Intracanal Medicament against Enterococcus faecalis J Endod 2011;37:1287–1289
- Montenegro G, Pena RC, Avila G & Timmermann BN. (2001). Botanical origin and seasonal production of propolis in hives of Central Chile. Bolm Bot Univ Sao Paulo 19: 1–6

- Munoz O, Pena R, Ureta E, Montenegro G, Caldwell C, Timmermann B. (2001). Phenolic Compounds of Propolis from Central Chilean Matorral. Z Naturforsch 56(3-4): 273-7
- Park YK. (1998). Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms.
  Curr Microbiol 36: 24-28
- Parolia A, Kundabala M, Rao NN, Acharya SR, Agrawal P, Mohan M, Thomas M. (2010) A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. Aust Dent J. 2010 Mar;55(1):59-64.
- Parsons GJ, Patterson SS, Miller CH, Katz S, Kafrawy AH, Newton CW. (1980) Uptake and release of chlorhexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1980 May;49(5):455-9.
- Pérez Vallejo María Magdalena (2006) actividad antimicrobiana in vivo de un extracto hidroalcoólico de propóleo al 0.2% contra bacterias anaerobias en saliva de paciantes con Periodontitis Crónica Trabajo de Investigacion para optar al título de cirujano dentista, Universidad de Valparaiso, Chile
- Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V. (2005). Antibacterial activity of
  Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. Phytomedicine 12(3) 221-228
- Propravko, S. A. (1975). Composición química del propóleo, su origen y problemas de uniformación. Apimondia: Bucarest.. p. 19-22.
- Ramos IF, Biz MT, Paulino N, Scremin A, Della Bona A, Barletta FB, Figueiredo JA. (2012) Histopathological analysis of corticosteroid-antibiotic preparation and propolis paste formulation as intracanal medication after pulpectomy: an in vivo study. J Appl Oral Sci. 2012 Feb;20(1):50-6.
- Rezende GP, da Costa LR, Pimenta FC, Baroni DA. (2008) In vitro antimicrobial activity of endodontic pastes with propolis extracts and calcium hydroxide: a preliminary study. Braz Dent J. 2008;19(4):301-5.
- Rosalen PL, Koo H, Cury JA, Park YK. (1998). Efeito da propolis em rato de
  ssalivado dessalivado. 15a Reuniao Anual da SBPqO Res., A-074, 30
- Sabir A, tabbu Cr, Agustiono P, Sosroseno W.(2005) Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. J Oral sci 2005; 47: 135-8
- Sawaya A, Palma A, Caetano F, Marcucci M, Da Silva I, Araujo C, Shimizu M (2002). Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of candida. Letters in applied Microbiology 35: 203-207

- Siqueira JF, Rocas I, Souto R, de Uzeda M, Colombo A (2002). *Actinomyces species, Streptococci and Enterococcus faecalis* in primary root canal infections. J Endod; 28(3): 168-172.

- Siqueira J (2003). Taxonomic changes of bacteria associated with endodontic infections . J Endod 29(10): 619-623

- Siqueira FJ, Lopes HP (1999): Mechanisms of antmicrobial activity of cacium hydroxide: a critical review. Int Endod Journ, 1999. 32:361-369.
- Siqueira JF Jr, de Uzeda M. (1998) Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. J Endod. 1998 Oct;24(10):663-5.
- Silva FB, Almeida JM, Sousa SM (2004) Natural medicaments in endodontics -- a comparative study of the anti-inflammatory action. Braz Oral Res. 2004 Apr-Jun;18(2):174-9. Epub 2004 Aug 5.
- Souza F, Soares A (2009): Antimicrobial effect an pH of Clorhexidine gel and Calcium Hydroxide alones and associated with other materials. Braz Dent J, 2008; 19(1):28-33.
- Svensäter G, Bergenholtz G. (2004) Biofilms in endodontic infections. Endodontic Topics, 2004, 9:27-36.
- Svensäter G, Welin J, Wilkins JC, Beighton D, (2004) Appl Environ Microbiol. Jun;70(6):3736-41. Protein expression by Streptococcus mutans during initial stage of biofilm formation.
- Sundqvist G (1994). Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 78(4): 522-30
- Sundqvist G (1992). Associations between microbial species in dental root canal infections. Oral Microbiol Inmunol 7(5): 257-262.
- Sundqvist G, Johansson E, Sjogren U (1989). Prevalence of black pigmented bacteroides species in root canal infections. J Endod 15(1): 13-9
- Stepanovic S, Antic N, Dakic I, Svabic-Vlahovic S. (2003). In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism betwen propolis and antimicrobial drugs. Microbiol Res 158: 353-357
- Tae-Wook C, Sung-Kwon M, Young-Chae C, Jeong-Heon K, Young-Choon L, Gun C, Soo-Hyun K, Jong-Guk K. (2004). Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. The FASEB Journal 18: 1670-1681
- Takaisikikuni N, Schilcher H. (1994). Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mecchanism of the antibacterial
  action of a defined propolis provenance. Planta Med 60: 222-227
- Torabinejad M, Handysides R, Khademi A, Bakland L.(2002) Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. oral surg oral med oral pathol oral radiol endod. 2002;94:658–66

- Tordik et all, (2010). Naval Postgraduate Dental School Clinical Update 2004
- Valera, Marcia Carneiro, Jucely Aparecida da Rosa, DDS, Lilian Eiko Maekawa, MD, Luciane Dias de Oliveira, PhD, Cláudio Antonio Talge Carvalho, PhD, Cristiane Yumi Koga-Ito, PhD, and Antonio Olavo Cardoso Jorge, (2010) Action of propolis and medications against *Escherichia coli* and endotoxin in root canals Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2010;110:e70-e74
- Victorino F, Casaroto A, Garcia R (2009) Removal efficiency of propolis paste dressing from the root canal. J Appl Oral Sci. 2010;18(6):621-4
- Waltimo T, Siren E, Orstavik D, Haapasalo M (1999). Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. Int Endod J; 32(2): 94-8
- White R.R. Hays G. Janer L. (1997) Residual Antimicrobial Activity after Canal Irrigation with Chlorhexidine. *Joe* 1997, 23,4: 229-31
- Yannai S, Day AJ, Williamson G & Rhodes MJC. (1998). Characterization of flavonoids as monofunctional or bifunctional inducers quinona reductasa in murine hepatoma cell lines. Food Chem Toxicol 36: 623-630