



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD LEÓN**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD  
ANTIBACTERIANA DEL COMPUESTO CTZ  
EN FUNCIÓN DEL TIEMPO Y ELECCIÓN DE  
ALMACENAMIENTO. *ESTUDIO IN VITRO*.**

**TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :**

**LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA**

**P R E S E N T A :**

**NORMA JESSICA RAMÍREZ GONZÁLEZ**

**TUTOR: ESP.FEDERICO MORALES CORONA.  
ASESORES: DRA. LAURA SUSANA ACOSTA  
TORRES.  
DRA. PALOMA NETZAYELI SERRANO DÍAZ.**



**LEÓN, GTO, 2022.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# ÍNDICE

DEDICATORIAS .....	5
AGRADECIMIENTOS .....	6
AGRADECIMIENTOS TÉCNICOS .....	7
RESÚMEN .....	8
INTRODUCCIÓN .....	9
1. MARCO TEÓRICO .....	10
1.1 DENTICIÓN PRIMARIA .....	10
1.1.1 IMPORTANCIA DE LA DENTICIÓN PRIMARIA .....	10
1.1.2 DIFERENCIAS ENTRE DENTICIÓN TEMPORAL Y PERMANENTE .....	11
1.1.3 DIFERENCIAS ENTRE LA MORFOLOGÍA CAMERAL Y RADICULAR EN LA DENTICIÓN PRIMARIA .....	12
1.1.4 ERUPCIÓN DE LA DENTICIÓN PERMANENTE .....	12
1.2. PULPA DENTAL .....	13
1.2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES PULPARES Y PERIAPICALES .....	13
1.2.1.1 ENFERMEDADES PULPARES .....	13
1.2.1.2 ENFERMEDADES PERIAPICALES .....	14
1.2.1.3 MICROBIOLOGÍA DE LA DENTICIÓN PRIMARIA CON DIAGNÓSTICO DE NECROSIS PULPAR Y LESIÓN PERIRRADICULAR .....	15
1.3 TERAPIA PULPAR .....	16
1.3.1 PULPOTOMÍA .....	16
1.3.2 PULPECTOMÍA .....	17
1.4 TERAPIA ENDODÓNTICA NO INSTRUMENTADA (NIET) .....	18
1.4.1 PASTAS ANTIBIÓTICAS .....	18
1.4.2.1 COMPONENTES DE LA PASTA CTZ .....	19
1.4.2.1.1 TETRACICLINA .....	19
1.4.2.1.2 CLORANFENICOL .....	20
1.4.2.1.3 ÓXIDO DE ZINC-EUGENOL .....	21
1.4.4 TÉCNICA .....	23
1.4.5. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE ESTA TÉCNICA .....	24
1.4.6 BIOCOMPATIBILIDAD .....	25

1.4.7 TÉCNICAS DE LA EVALUACIÓN BACTERIANA Y GRUPOS FUNCIONALES DEL CTZ .....	26
1.4.7.1. TÉCNICA DE DIFUSIÓN EN AGAR .....	26
2. ANTECEDENTES .....	30
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>32</b>
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	32
2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	33
3. JUSTIFICACIÓN .....	33
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	35
6. HIPÓTESIS .....	35
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>36</b>
1. METODOLOGÍA .....	36
1.1. TIPO DE ESTUDIO .....	36
1.1.2. UNIVERSO DE ESTUDIO .....	36
1.2. VARIABLES .....	36
1.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN .....	38
1.4. TAMAÑO DE MUESTRA .....	39
1.5. MATERIALES .....	40
1.6. MÉTODO .....	41
1.6.1 PREPARACIÓN DEL CTZ .....	41
1.6.2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO .....	42
1.6.3 ELABORACIÓN DE CULTIVO JOVEN DE 24 HORAS .....	43
1.6.4. ESTANDARIZACIÓN DE LA SUSPENSIÓN .....	44
1.6.5. ELABORACIÓN DE ENSAYO ANTIMICROBIANO .....	45
1.6.6. ANÁLISIS DE GRUPOS FUNCIONALES .....	46
1.7. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	46
1.8. INFRAESTRUCTURA .....	46
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>47</b>
1. RESULTADOS .....	47
1.1. EFECTO ANTIMICROBIANO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO .....	50
1.2. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO SEGÚN LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO .....	59

<b>1.3. EFECTO ANTIMICROBIANO DEL COMPUESTO CTZ EN CADA ESPECIE BACTERIANA .....</b>	<b>64</b>
<b>1.4. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO .....</b>	<b>68</b>
<b>2. DISCUSIÓN.....</b>	<b>70</b>
<b>3. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>82</b>

## **DEDICATORIAS**

A mis padres, que con sus enseñanzas, consejos y apoyo me ayudan día con día a alcanzar mis metas y objetivos, les debo todo y espero algún día podérselo recompensar ya que sin su esfuerzo no hubiera podido concluir esta etapa de mi vida ni ser la mujer que soy en la actualidad.

A mis hermanos, por apoyarme siempre de manera incondicional.

A mis sobrinos, por su amor y ser mi motivación, espero siempre brindarles un buen ejemplo.

A mis queridos amigos y compañeros que hicieron ésta experiencia aún mejor.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Escuela Nacional de estudios Superiores Unidad León, por permitirme ingresar, es una dicha formar parte de una institución tan reconocida mundialmente y una casa de estudios que siempre busca brindar lo mejor a sus alumnos en todos los aspectos y tratar de formar a profesionistas de calidad.

Al Laboratorio de Nanoestructuras y Biomateriales, por permitirme utilizar sus instalaciones y sus equipos para realizar este proyecto.

A la Dra. Laura Susana Acosta Torres por apoyar esta investigación e interesarse siempre por los alumnos y siempre ver lo mejor para nosotros en materia académica.

Al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM, campus Juriquilla y a la Dra. Genoveva Hernández Padrón, por su apoyo al realizar el análisis de espectroscopía y su disponibilidad.

Al Esp. Federico Morales Corona, por ser el autor de la idea de este proyecto, por su paciencia y confianza en mí para llevarlo a cabo.

A la Dra. Paloma Netzayeli Serrano Díaz, por la ayuda técnica y de análisis estadístico brindada, su paciencia y su disponibilidad para compartirme un poco de su conocimiento.

## **AGRADECIMIENTOS TÉCNICOS**

Al Dr. Ravichandran Manisekaran, por brindarme su ayuda con el análisis de caracterización y de resultados, además de su paciencia y disponibilidad en todo momento.



## RESÚMEN

La terapia pulpar como tratamiento en dientes deciduos con compromiso pulpar es una opción para la preservación de los dientes hasta su exfoliación fisiológica; una de las técnicas es la no instrumentada en la cual se coloca una pasta compuesta por cloranfenicol, tetraciclina y óxido de zinc con eugenol (CTZ). El objetivo de este estudio es el seguimiento de la evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano del compuesto CTZ almacenado, durante 12 semanas a partir de su elaboración. Se preparó el compuesto CTZ en proporción 1:1:2, se colocó una porción en un frasco transparente y la restante en un frasco ámbar, se almacenó durante 4 meses y se realizaron pruebas de inhibición bacteriana mediante exposición directa del compuesto CTZ con eugenol sobre los microorganismos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Escherichia coli*.

# INTRODUCCIÓN

La dentición temporal tiene una importancia fundamental tanto por su estética, fonación, masticación inclusive en el bienestar psicosocial del infante; además de mantener el espacio necesario para la erupción favorable de la dentición permanente (1).

La caries es la principal enfermedad bucal presente en los pacientes pediátricos y si no se emplea una adecuada cultura de prevención, ésta puede progresar a un daño pulpar y puede ocasionar una pronta pérdida del diente afectado (2).

Un gran número de casos de lesiones cariosas profundas requieren de un tratamiento pulpar por lo que es importante evaluar y tratar de conservar el diente y su integridad hasta el momento de su exfoliación y que este pueda continuar cumpliendo con sus funciones adecuadamente. Sin embargo, una de las características anatómicas que presentan los dientes temporales es la presencia de conductos accesorios e intrincados que muchas veces imposibilita la correcta eliminación de la pulpa infectada, lo que se convierte en la causa de la falla en el tratamiento (3).

# **CAPÍTULO 1**

## **1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1 DENTICIÓN PRIMARIA**

La erupción de la dentición primaria ocurre entre el sexto y treceavo mes de vida posnatal y se toma de dos a tres años para que ésta se complete, teniendo en total veinte dientes presentes en esta dentición. La dentición temporal se conforma por 3 grupos de dientes, incisivos, caninos y molares; son un total de 20 dientes una vez erupcionados todos (4).

Aproximadamente, a los 24 meses de vida ya ha erupcionado por completo la dentición primaria y a los 3.5 años se han formado totalmente sus raíces.

En lo que concierne al tamaño, morfología dental, así como la formación, todo es hereditario (4). Además, existen pocas correlaciones definitivas entre la erupción de dientes primarios y otros parámetros fisiológicos como la maduración esquelética, tamaño y sexo (5).

#### **1.1.1 IMPORTANCIA DE LA DENTICIÓN PRIMARIA**

La susceptibilidad a la caries es función del tiempo de exposición al ambiente bucal y del tipo morfológico, además, la susceptibilidad relativa de las distintas superficies dentales es un factor que lo vuelve aún más alarmante (6).

Se puede considerar erróneamente que las lesiones cariosas en dentición primaria y la pérdida de estos dientes es solo algo pasajero y no se toma mayor importancia pues pronto erupcionarán los permanentes; ésta creencia parece ignorar por completo el papel de la dentición primaria en la masticación, el habla y respiración, así como su importancia para el mantenimiento de los espacios para la erupción de los dientes permanentes pues estos sirven de guía para su correcto

posicionamiento, e incluso proporcionan crecimiento y desarrollo facial adecuado por la estimulación del crecimiento mandibular (7).

Se señala a la caries como el principal causante de patología pulpar, pero, además del factor bacteriano se encuentran otros factores como lo son traumáticos, iatrogénicos e idiopáticos que en repetidas ocasiones conllevan a la pérdida prematura dental (7).

Su pronta pérdida puede dar como resultado un cambio en la longitud del arco con desviación mesial de los dientes permanentes y por consiguiente una maloclusión; por lo cual es de extrema importancia realizar el tratamiento indicado para permitir que el diente cumpla con sus funciones adecuadamente hasta el momento de su exfoliación (8).

### **1.1.2 DIFERENCIAS ENTRE DENTICIÓN TEMPORAL Y PERMANENTE**

En comparación con la dentición permanente, los dientes primarios son más pequeños y las dimensiones de sus coronas más reducidas, los cuellos son más delgados y sus raíces más divergentes.

Siendo más específicos:

Las coronas de los dientes son más anchas que largas en sentido mesiodistal.

Las raíces de los dientes anteriores primarios son comparativamente más largas y delgadas.

Las raíces de los molares primarios son más largas, más delgadas y también más divergentes, además se extienden más allá de los contornos de la corona clínica (8,9).

### **1.1.3 DIFERENCIAS ENTRE LA MORFOLOGÍA CAMERAL Y RADICULAR EN LA DENTICIÓN PRIMARIA**

El ancho de las coronas es grande en todas las direcciones en comparación con la raíz y los cuellos de los dientes primarios, el espesor de la dentina que se encuentra entre la cámara pulpar y el esmalte es reducido; poseen cuernos pulpares altos y cámaras pulpares grandes y las raíces son delgadas, divergentes y bastante largas en comparación con el largo y ancho de las coronas (8,9).

### **1.1.4 ERUPCIÓN DE LA DENTICIÓN PERMANENTE**

La formación de la dentición permanente fue descrita por Schour y Massler; la presentó en tres grupos; el primero, consiste en el primer molar, incisivos y caninos, los cuales empiezan su formación durante el primer año, el segundo grupo aproximadamente a los 4 años, y siendo los restantes; el tercer grupo que consta del tercer molar, se forma de cinco a seis años después del segundo molar, aunque su formación y erupción varían entre cada individuo (10,11).

Previo a la erupción de la dentición permanente, deben haber exfoliado los dientes primarios, este proceso consiste en la reabsorción de las raíces primarias; aunque, no siempre toma su curso rutinario por lo que el diente permanente podría no erupcionar, tomar una posición fuera de lo normal o podría resultar en una retención prolongada del diente primario. Esto debido a varias situaciones como lo son una pérdida prematura lo que conlleva a una pérdida de espacio, por un traumatismo dental o por una morfología particular (12).

## **1.2. PULPA DENTAL**

La pulpa dental es un tejido conjuntivo laxo de origen mesenquimatoso que se encuentra en el interior de la cámara pulpar y en las raíces del diente. Constituye junto con la dentina el complejo dentino-pulpar (13,14).

La pulpa dental cumple cuatro funciones básicas para el diente que son; 1) formación de dentina, 2) función sensitiva a través de sus fibras nerviosas, 3) función de nutrición a través de su rica microvasculatura y 4) provee de protección al diente mediante la formación de dentina terciaria o de reparación (14).

### **1.2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES PULPARES Y PERIAPICALES**

#### **1.2.1.1 ENFERMEDADES PULPARES**

Las enfermedades pulpares se pueden clasificar en pulpitis reversible, pulpitis irreversible sintomática, pulpitis irreversible asintomática y necrosis pulpar.

En la pulpitis reversible, la pulpa se encuentra vital pero inflamada y con capacidad de repararse una vez que se elimine el factor irritante; en pulpitis irreversibles, la pulpa se encuentra vital e inflamada, pero sin capacidad de recuperación, aun cuando se hayan eliminado los estímulos externos que provocan el estado inflamatorio; se forma entonces un edema intersticial que va a incrementar la presión intrapulpar, comprimiendo las fibras nerviosas, lo que da lugar a un dolor muy intenso, espontáneo y provocado que la convierte en sintomática. (15,16)

Una pulpitis irreversible asintomática se desarrolla a partir de una pulpitis sintomática no tratada en la que ha cedido la fase aguda o en la que los estímulos externos son leves o moderados, pero mantenidos en el tiempo debido a un equilibrio entre las bacterias y las defensas, dado que las células de defensa son

capaces de neutralizar la agresión bacteriana y hacer que permanezca asintomática (17).

La necrosis pulpar, es la descomposición séptica o no, del tejido conjuntivo pulpar que cursa con la destrucción del sistema micro vascular y linfático de las células y, en última instancia, de las fibras nerviosas (15,16,17).

### **1.2.1.2 ENFERMEDADES PERIAPICALES**

La clasificación periapical se divide en periodontitis apical sintomática (PAS), periodontitis apical asintomática (PAA), absceso apical agudo (AAA), absceso apical crónico (AAC) y osteítis condensante (absceso apical crónico agudizado).

Tejidos apicales normales: El paciente se encuentra asintomático y el diente responde con normalidad a las pruebas de vitalidad, radiográficamente la lámina dura y el espacio del ligamento periodontal se aprecian intactos (17,18).

PAS: Existe una respuesta dolorosa a la oclusión o a la percusión, sin embargo, las respuestas a la vitalidad pulpar es variable; generalmente, en la radiografía se podrá observar el espacio del ligamento periodontal ensanchado y puede o no presentar una radiolucidez apical asociada a la raíz del diente (17,18).

PAA: En esta no se muestran síntomas clínicos, no responde a las pruebas de vitalidad pulpar, la radiografía muestra una radiolucidez perirradicular. El paciente puede percibir “diferente” al percutir (17,18).

AAA: Éste será muy doloroso a la presión, masticación, percusión y palpación. Sin respuesta a pruebas de vitalidad pulpar y exhibirá grados de movilidad variables. Radiográficamente, se puede apreciar un ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal hasta una radiolucidez perirradicular. Los tejidos faciales próximos al diente casi siempre mostrarán cierto grado de tumefacción, es frecuente

que el paciente presente fiebre y los ganglios linfáticos cervicales y submandibulares sean sensibles a la palpación (17,18).

AAC: El paciente no presentará normalmente síntomas clínicos, el diente no responderá a las pruebas de vitalidad pulpar, la radiografía mostrará una radiolucidez perirradicular (17,18).

### **1.2.1.3 MICROBIOLOGÍA DE LA DENTICIÓN PRIMARIA CON DIAGNÓSTICO DE NECROSIS PULPAR Y LESIÓN PERIRRADICULAR**

Se ha demostrado en muchos estudios que los microorganismos juegan un papel importante en la etiología de la patología pulpar y periapical (19,20).

Estudios realizados mediante cultivo microbiano convencional y técnicas moleculares han demostrado que, en casos de necrosis pulpar y periodontitis apical, la microbiota endodóntica es similar tanto en dentición primaria como permanente, ya que consistente en una infección polimicrobiana con predominio de estreptococos y bacterias anaerobias (21,22).

Si la pulpa queda expuesta, como ocurre por ejemplo en la caries esta queda expuesta a toda flora oral; los *Streptococos* alfa- hemolíticos, los *Enterococcus* y *Lactobacilos* son los que se encuentran con más frecuencia. A medida que aumenta el espesor de la pulpa necrótica se establece un mayor número de especies anaeróbicas obligadas, entre las cuales se incluyen los cocos anaeróbicos Gram positivos y los bacilos Gram negativos que están favorecidos por la baja concentración de oxígeno existente en las zonas necróticas de la pulpa, tales como *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Fusobacterium*, entre otras (23,24).



## **1.3 TERAPIA PULPAR**

### **1.3.1 PULPOTOMÍA**

La pulpotomía se considera un tratamiento conservador para revertir el proceso inflamatorio de la pulpa, evitando así el dolor y manteniendo la función del diente, limitándose sólo a la remoción de la pulpa cameral, además, tiene un porcentaje de éxito de entre el 79 y 100% cuando la técnica es empleada adecuadamente (25,26).

Si un diente con caries no se trata, o es inadecuadamente tratada una invasión bacteriana de la corona a la pulpa, produce una respuesta inflamatoria; en esta etapa, la inflamación se limita a la pulpa coronaria, pero si el tejido afectado se elimina y la entrada a los conductos radiculares se cubre con un adecuado agente, el resto del tejido está sano y es capaz de cicatrizar después de la amputación de la pulpa coronal afectada (27,28).

Está indicada cuando exista en ausencia de fístula o absceso y con un sangrado que sea fácil de controlar. Radiográficamente, no debe observarse ensanchamiento del ligamento periodontal, radiolucidez periapical, interradicular o en furca, así como en el sucesor permanente, ni reabsorción radicular interna (29).

En dientes en los que se presente una destrucción más amplia o ya la inflamación no se localice solo en pulpa cameral, sino que ya ha llegado a comprometer otros tejidos está contraindicado el tratamiento de pulpotomía y se deberá recurrir a la pulpectomía o extracción de acuerdo al caso (29,30).

### **1.3.2 PULPECTOMÍA**

La pulpectomía es un tratamiento empleado cuando la pulpa se encuentra en estado irreversible patológico, en el cual se remueve todo el tejido pulpar, tanto coronal como radicular, eliminando todas las bacterias que allí se encuentren (30). Está indicada en dientes primarios diagnosticados con pulpitis irreversible o necrosis, y también cuando durante la realización de una pulpotomía la pulpa radicular exhiba signos clínicos de pulpitis irreversible (31).

Es una técnica mecánica en la que con uso de instrumentos manuales se realiza la limpieza de los conductos radiculares, con una solución fisiológica se lubrican y se obturan con un material que cumpla con características específicas para su manipulación, compatibilidad y que pueda permanecer sin afectar en la completa exfoliación de éste diente. Posterior a este tratamiento se debe realizar un control radiográfico y en un par de semanas debería cursar sin ningún tipo de signos y síntomas clínicos (32,33).

Sin embargo, la conformación y topografía de los conductos radiculares de la dentición primaria con curvaturas y la gran cantidad de conductos accesorios hacen difícil garantizar una correcta y completa desinfección de los conductos radiculares, es debido a estas mismas limitaciones lo que orienta al odontólogo a indagar sobre materiales de obturación que puedan compensar estas situaciones ya que el éxito del tratamiento depende totalmente de la eliminación de todas las bacterias que pudieran estar presentes en una infección pulpar (34,35).

## **1.4 TERAPIA ENDODÓNTICA NO INSTRUMENTADA (NIET)**

Un grupo de investigadores japoneses desarrollaron el concepto de la técnica endodóntica no instrumentada (NIET), en la cual se emplean una mezcla de fármacos antibacterianos para la desinfección de la pulpa (36,37). Mass y Zilberman en 1989 reportaron una técnica endodóntica en una sola cita para tratar molares deciduos necróticos (38).

Ellos apoyan la hipótesis de que si hay una esterilización de la lesión podrá producirse la reparación de los tejidos (LSTR) por sus siglas en inglés (39).

La técnica consiste en la colocación de una pasta a base de componentes antimicrobianos unidos a un vehículo que se colocarán en la entrada de cada canal de la raíz (40). Los medicamentos más empleados para esta terapia son: tetraciclinas, metronidazol, ciprofloxacino y, como vehículos, el macrogol, propilenglicol y eugenato (41).

### **1.4.1 PASTAS ANTIBIÓTICAS**

Las pastas antibióticas asumen un papel fundamental para que la reparación de los elementos dentarios se desenvuelva de acuerdo a los patrones biológicos normales (42). Por tanto, se torna fundamental el utilizar un medicamento que imposibilite la sobrevivencia de microorganismos.

Debido a la diversidad bacteriana que existe en los conductos radiculares, estas pastas no pueden contener un solo antibiótico ya que sería poco probable disminuir o eliminar la infección de los conductos radiculares (43,44).

La pasta CTZ es una de las más conocidas para llevar a cabo la pulpectomía no instrumentada (44).

## **1.4.2 PASTA CTZ**

La pasta CTZ está compuesta por cloranfenicol, tetraciclina y óxido de zinc más eugenol, fue sugerida por Soller y Cappiello, en 1959, para el tratamiento de molares temporales con compromiso pulpar, siendo una técnica caracterizada por no requerir de instrumentación de los conductos radiculares (NIET) (45). Dicha pasta está compuesta de una parte de tetraciclina (500mg), una parte de cloranfenicol (500 mg), dos partes de óxido de zinc tipo I (1000mg) y eugenol (una gota).

### **1.4.2.1 COMPONENTES DE LA PASTA CTZ**

#### **1.4.2.1.1 TETRACICLINA**

Pertenece al grupo de las tetraciclinas, su estructura química es la tetraciclina, con carácter anfotérico. Su nombre se origina por tener en su estructura 4 anillos bencénicos fusionados. Actúa contra cocos y bacilos Gram (+), Gram(-), y especies bacterianas como *Cándidas*, *E. coli* y *Pseudomonas* (46).

La tetraciclina es bacteriostática, aunque puede llegar a ser bactericida en altas concentraciones, accede al interior celular por un doble mecanismo de difusión pasiva y transporte activo y se difunden al humor acuoso, saliva y orina, concentrándose especialmente en tejido óseo, encías y dientes; su excreción es fundamentalmente renal (47).

Posee un carácter altamente hidrofílico y baja volatilidad, algunas reacciones adversas que podría ocasionar son náuseas, vómito, diarrea, urticaria, dermatitis y puede producir reacciones de fotosensibilidad. Debe ser almacenado en un lugar fresco y apartado de la luz (48,60).

Los alimentos interfieren su absorción, por lo que debe administrarse lejos de las comidas; con lácteos y otros alimentos y medicamentos, como los antiácidos, forma compuestos insolubles llamados quelatos de Ca, Fe, Zn, Mg, Al y Bi, y pierden su actividad (49).

Está contraindicado cuando existe hipersensibilidad a tetraciclinas y alteración hepática o renal. Su toxicidad más temida es a nivel óseo y dentario, la primera se ha descrito en los huesos de fetos y niños pequeños provocando retardo en el crecimiento por su acción sobre el esqueleto (47,49).

En el caso de alteraciones dentarias, aparecen en los niños menores de 10 años, caracterizados por una pigmentación amarillenta brillante, que se oscurece con el tiempo y se torna parda por efecto de la luz (49).

#### **1.4.2.1.2 CLORANFENICOL**

Pertenece al grupo de los fenicoles, es un antibiótico bacteriostático aislado originalmente del *Streptomyces venezuelae*, eficaz contra Gram (+), Gram (-), incluyendo hongos como *Cándida albicans*. Se absorbe bien por vía oral, se distribuye por todo el organismo, penetrando en SNC, donde alcanza concentraciones terapéuticas. Se elimina por metabolismo hepático en forma inactiva y se excreta por vía renal (50).

Es un sólido cristalino blanco amarillento, estable en solución acuosa y resistente a la ebullición, es bastante sensible a la luz por lo que se sugiere un almacenamiento apartado de esta (51).

Su toxicidad puede cursar como 2 cuadros distintos de depresión medular: 1) toxicidad directa y dependiente de la dosis (reversible, afecta sobre todo a la serie roja, incidencia de 1/20 pacientes tratados, usualmente empieza a los 7 o 10 días de iniciado el tratamiento); 2) toxicidad idiosincrásica, no dependiente de la dosis, (baja incidencia de 1/30.000 tratamientos, produce un cuadro de aplasia medular, que puede aparecer incluso meses después de finalizado el tratamiento y que suele

ser fatal). 3) Síndrome gris del recién nacido, se debe a inmadurez hepática del niño para metabolizar el cloranfenicol. Se caracteriza por náuseas, vómitos, flacidez, acidosis, hipotermia y color grisáceo (50,51).

Está indicado siempre que no existan otras opciones más seguras en tratamiento de infecciones por *Salmonella*, *Meningitis por H. influenzae*, Infecciones por *B. fragilis* e Infecciones por *rickettsias*; contraindicado en antecedentes de hipersensibilidad, porfiria e insuficiencia renal; incrementa acción de anticoagulantes orales e inhibe la acción de penicilinas y cefalosporinas (50).

### **1.4.2.1.3 ÓXIDO DE ZINC-EUGENOL**

El óxido de zinc con eugenol (ZOE) es un compuesto a base de un polvo (óxido de zinc) y líquido (eugenol) tiene un tiempo de fraguado y elasticidad, sin embargo, el eugenolato de zinc le confiere una alta solubilidad, lo que lleva a perder estabilidad (52).

En odontología se utilizan como bases cavitarias, selladores de canales radiculares, reconstrucciones provisionales, agentes cementantes y también se suele utilizar en tratamientos de conductos radiculares como material obturador (52).

En el año 2008 la Academia Americana de Odontopediatría consideraba el ZOE el único obturador de conductos, anteriormente era utilizado como protector pulpar hasta que se demostró que al entrar en contacto con el tejido pulpar produce inflamación crónica y posteriormente muerte pulpar (52).

El material en polvo de tonalidad blanquecina contiene básicamente ZOE y como aceleradores se utiliza alrededor de 1% de partículas de relleno de sílice y sales de zinc como acetato, propionato o sulfato. El líquido, contiene 85% de eugenol, ácido acético o propiónico y pequeñas cantidades de agua. Deben ser almacenados en un lugar fresco y seco, mantener los recipientes perfectamente cerrados y en el caso del eugenol, protegido de la luz (53,54).

El eugenol, tiene la propiedad de aliviar el dolor de las piezas dentales que han sido afectadas por algún agente externo, también posee la capacidad de bloquear la conducción nerviosa. Además, es capaz de inhibir la ciclooxigenasa, llegando a producir una acción anestésica y antiinflamatoria. A bajas concentraciones proporciona anestesia local de forma reversible (55).

Utilizado en concentraciones elevadas posee acción bactericida, por lo que provoca daño a la membrana celular, en cambio sí se usa en bajas concentraciones tiene la acción de estabilizar la membrana celular, lo cual evita el ingreso de las bacterias al interior del canal radicular, también inhibe el desarrollo de microorganismos fúngicos, resultando eficaz contra infecciones bucales pero puede llegar a provocar lesiones cáusticas o quemaduras superficiales cuando es colocado en forma directa y en altas concentraciones en los tejidos blandos (55).

El rango de éxito clínico utilizando éste material varía del 68.7% al 86.1%; aunque, a pesar de que se ha demostrado en varios estudios su efecto antibacteriano en cultivos puros, estudios in vitro han demostrado que por sí solo no podría inhibir a *E. coli*, *S. aureus* o *S. viridans* (56,57).

### **1.4.3 INDICACIONES DE LA PASTA CTZ**

El uso de la pasta CTZ está indicada en dientes temporales con diagnóstico de necrosis pulpar, dientes temporales con raíces reabsorbidas que por un motivo en específico deban permanecer en boca, niños no colaboradores que tengan historia de tratamiento pulpar previo y tratamiento de pulpitis irreversible en molares permanentes jóvenes con ápices incompletos (58), además, en situaciones de odontología comunitaria donde el acceso a comunidades rurales sea difícil, aquí se involucra el factor económico al no tener posibilidad de pagar dichos tratamientos y que no es posible contar con las facilidades operatorias completas.

### **1.4.4 TÉCNICA**

Previa administración de anestesia local y aislamiento absoluto del diente a tratar, se retira el techo de la cámara pulpar, irrigando con hipoclorito de sodio al 0.5% y secando con torundas de algodón estéril, se procede con la manipulación del material CTZ y su colocación sobre el piso de la cámara pulpar; por último, se coloca el cemento de obturación temporal (58).



## **1.4.5. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE ESTA TÉCNICA**

### Ventajas

Elimina las bacterias aisladas de los conductos radiculares infectados, penetra en los conductos accesorios y se ha observado éxito clínico con un 92% de efectividad clínica (58, 59,60,61,62).

### Desventajas

Puede presentar efectos secundarios tales como náuseas, vómito, diarrea, aumento de urea sanguínea, urticaria, erupción, dermatitis, coloración permanente de dientes, inhibición de desarrollo óseo en niños, sobreinfección, anemia hemolítica, eosinofilia, trombocitopenia, reacciones de fotosensibilidad, leucopenia y agranulocitosis, esto debido a los antibióticos utilizados, así como reacciones alérgicas a los componentes y cepas resistentes a los antibióticos (58,63).

## 1.4.6 BIOCOMPATIBILIDAD

Mattos y cols, en 2008, evaluaron la biocompatibilidad de la pasta CTZ; ellos implantaron los componentes de esta pasta en el tejido subcutáneo de ratas con el control del experimento a intervalos de 3, 7, 15 y 30 días; posteriormente, se les realizaron biopsias de las zonas de implantación, obteniendo así información de la cantidad relativa de células inflamatorias o no en el sistema de prueba y se obtuvo como resultado la biocompatibilidad de la pasta (69).

De Barros y cols, en 2007, evaluaron mediante análisis histológico, la biocompatibilidad de una pasta antibiótica tras el tratamiento de pulpotomías en perros. Se utilizaron cuatro perros machos adultos y se sometieron a pulpotomías. La pasta antibiótica (CTZ) se preparó con cloranfenicol, tetraciclina, óxido de zinc y eugenol. Después de 6, 8, 9 y 10 meses después de la pulpotomía, el análisis histológico de los dientes reveló un intenso proceso inflamatorio en la pulpa coronal a los 6 meses de la pulpotomía, con células inflamatorias dispersas por toda la región apical en este período. Este proceso se redujo parcialmente a los 8 y 9 meses después de la pulpotomía, y desapareció totalmente al final del experimento, a los 10 meses. En conclusión, el tratamiento con esta pasta antibiótica pareció ser biocompatible en esas condiciones (44).

Lacativa y Loyola, en 2012, realizaron un estudio mediante la técnica de implante intraóseo para evaluar los materiales más utilizados para la terapia pulpar en odontopediatría; entre ellos la pasta CTZ; en dicho estudio se emplearon treinta conejillos de indias los cuales recibieron un implante de cada lado de la sínfisis mandibular inferior; tuvieron períodos experimentales de 4 y 12 semanas y al final de los periodos de observación se pudo concluir que solamente una de las pastas estudiadas fue totalmente biocompatible y las demás incluyendo a la pasta CTZ mostraron una biocompatibilidad relativa (64).

De manera general, estos estudios demuestran una biocompatibilidad aceptable de la pasta CTZ, sin embargo, se necesitan más estudios clínicos para asegurar que esta pasta sea segura para su uso en pulpotomías en niños.

## **1.4.7 TÉCNICAS DE LA EVALUACIÓN BACTERIANA Y GRUPOS FUNCIONALES DEL CTZ**

Existen diferentes metodologías para evaluar el efecto y sensibilidad de fármacos antibacterianos o antifúngicos que han sido empleadas exitosamente en la evaluación del potencial biocida de algunos materiales. La técnica más popular para realizar pruebas de actividad antimicrobiana es la de difusión en agar (a través de sensidiscos o difusión en pozo) (65,66).

Para evaluar los grupos funcionales de cualquier compuesto se encuentra la espectroscopía de infrarrojo, en la cual la interacción de la radiación infrarroja con la materia provoca en ésta alguna alteración y guarda relación con cambios en el estado vibracional de las moléculas (67).

### **1.4.7.1. TÉCNICA DE DIFUSIÓN EN AGAR**

El agar Mueller Hinton, es un medio de cultivo rico, diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad antimicrobiana y antifúngica, recomendado por el Comité de la Organización Mundial de la Salud sobre estandarización de pruebas de susceptibilidad. Este Comité lo propuso ya en 1970 para determinar la susceptibilidad de los microorganismos frente a los antimicrobianos, por no llevar incorporados inhibidores como, por ejemplo, el PABA (ácido p-aminobenzoico) que anula la actividad de sulfamidas y antibióticos y debido también a su reproducibilidad y aceptación por las personas que trabajan en este campo. Desde entonces su empleo se ha generalizado (65,68).

Los estudios comparativos entre las pastas antimicrobianas in vitro, son realizados con los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Cándida albicans* y *Bacillus subtilis*; tomando en cuenta esto, y agregando que son ideales para la realizar la prueba de difusión en agar, los microorganismos seleccionados para este estudio son los mencionados a continuación:

### ***Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* es un coco Gram positivo, con un diámetro de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ , agrupado formando racimos de uvas, es anaerobio facultativo y su localización es nasal y en mucosas; causante de infecciones simples sin complicaciones tales como foliculitis, forunculitis, hasta infecciones severas como endocarditis, septicemias, meningitis, neumonías o bacteriemias (69,70).

### ***Escherichia coli***

*Escherichia coli* es un bacilo aerobio Gram negativo, con un tamaño de 0.7-1-5 por 2.5  $\mu\text{m}$ , a pesar de ser una bacteria propiamente entérica, se han reportado estudios en donde se ha aislado esta cepa en pacientes portadores de prótesis removibles y también en paladar y lengua de pacientes regulares (71,72).

### ***Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo Gram negativo, anaerobio y considerado oportunista, tiene un diámetro de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ ; su localización más frecuente es en las vías respiratorias, pero puede aprovecharse de cualquier tejido necrótico o con mala perfusión. Ha sido aislada de infecciones endodónticas recurrentes e infecciones orales importantes (73,74,75,76).

## ***Enterococcus faecalis***

*Enterococcus faecalis* es un anaerobio coco Gram positivo, tiene un tamaño entre 0.5 y 0.8  $\mu\text{m}$ , se considera un patógeno oportunista y se encuentra de manera normal en el tracto gastrointestinal de los seres humanos, es causante de infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo, el sitio quirúrgico y el tracto urinario (73,74). Está significativamente más asociada con los casos asintomáticos de infecciones endodónticas primarias que con los sintomáticos, además, se ha encontrado en casos de terapia endodóntica fallida (77,78).

### **1.4.7.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO**

Es una técnica que permite la identificación de los grupos funcionales de un compuesto al ser analizado; esto, debido a que cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, la vibración intramolecular con frecuencia igual a la de la radiación, aumenta en intensidad, lo que genera señales con frecuencias que corresponden a la vibración de un enlace específico. La región infrarroja se divide en tres regiones denominadas infrarrojo cercano (NIR), infrarrojo medio (MIR) e infrarrojo lejano (FIR). Una de sus grandes ventajas es su versatilidad, ya que permite estudiar prácticamente cualquier muestra con independencia del estado en que se encuentre: líquidos, disoluciones, pastas, polvos, fibras, films, gases o superficies son algunos ejemplos; tiene una mayor aplicación en la caracterización e identificación de materiales, análisis de productos farmacéuticos y de síntesis, análisis de contaminantes, ciencia forense, biomedicina, agricultura, alimentos, adhesivos y polímeros, entre otros (79).

El espectro infrarrojo se obtiene al pasar radiación a través de una muestra y determinar qué fracción de esta radiación incidente ha sido absorbido. La energía particular a la que aparece cada pico en un espectro guarda relación con la

frecuencia de vibración de una parte de la molécula. Como en otros procesos de absorción de radiación electromagnética, la interacción de la radiación infrarroja con la materia provoca en ésta alguna alteración. En el caso que nos ocupa, esta alteración guarda relación con cambios en el estado vibracional de las moléculas (80).

El espectro vibracional de una molécula se considera una propiedad física única y por tanto característica de esta molécula por lo que nos es de gran utilidad para realizar análisis cuantitativos y cualitativos (79,67).

Mediante este método se puede determinar la degradación de los medicamentos resultando en cualquier cambio estructural en las partículas que lo conforman con el paso de tiempo y evaluar además su funcionalidad (79,67).

## 2. ANTECEDENTES

Desde tiempos atrás, se han realizado estudios con respecto al uso de la pasta CTZ, así tenemos que Capiello y Soller realizaron un estudio en 100 pacientes, entre 2 y 5 años de edad, que presentaban dientes temporales, con indicación de terapia pulpar. Los resultados clínicos y radiográficos fueron excelentes, en las pulpectomías se observó una ausencia de sintomatología dolorosa, remisión de la fístula, ausencia de movilidad dental y un retorno normal de la función masticatoria (80).

En Londrina, Brasil, un estudio clínico y radiográfico realizado por Walther, en 1965, se utilizó la pasta CTZ, en molares temporales, con necrosis pulpar, teniendo como tratamiento una pulpectomía. Se observó un 70% de éxito en las intervenciones clínicas. El estudio fue realizado en 116 pacientes, a los que se les realizaron 216 pulpectomías. Se consideró como éxito clínico aquellos dientes que al menos con 6 meses después del tratamiento no presentaron recidiva del proceso infeccioso, alteraciones clínicas visuales de los tejidos periodontales y de soporte, así como la desaparición de la lesión clínica inicial (81).

Costa y col (1994). Evaluaron la toxicidad de esta pasta antibiótica en ratones, administrándola de forma subcutánea en tubos de polietileno, observando que era menos irritante que el óxido de zinc y eugenol, después de 90 días (82).

Oliveira y cols (2006). Realizaron un estudio con 40 niños entre 3 y 6 años de edad los cuales fueron tratados, a un grupo se les realizó pulpotomía usando formocresol y otro grupo con CTZ, fueron evaluados a 3, 6 y 9 meses, el grupo de CTZ demostró un 80% de éxito en el tratamiento mientras que el grupo tratado con formocresol sólo mostró éxito en el 60% de los participantes (83).

Bruno y cols (2006). Evaluó los parámetros hematológicos y bioquímicos en la sangre de 7 perros machos y adultos, sometidos a pulpotomías de molares y premolares, utilizando cemento antibiótico compuesto por cloranfenicol, tetraciclina, óxido de zinc y eugenol, como obturador de la cámara pulpar, se extrajo sangre 48

horas previas, 30, 60 y 90 días después de las pulpotomías, para evaluaciones hematológicas y bioquímicas. Se concluyó que el uso de cemento antibiótico en pulpotomías realizadas en perros parece carecer de efectos tóxicos, siguiendo la metodología probada (31).

González y Trejo (2010). Reportan un solo caso de un molar necrótico donde observaron la remisión de los síntomas a dos semanas de realizar el tratamiento con pasta CTZ y la estabilización de la lesión cuatro y seis meses después, atribuyendo el éxito a la inhibición de la actividad microbiana por parte de la pasta antibiótica y su bajo efecto irritante al no estar en contacto directo con los tejidos periapicales (3).

Pérez Hernández y col (2012). Compararon la efectividad clínica y radiográfica de la pasta CTZ comparándola con la técnica convencional de pulpectomía en niños de cuatro a ocho años. Los resultados mostraron la eliminación de la sintomatología clínica a las dos semanas de tratamiento, y esta se mantuvo durante tres y seis meses; radiográficamente la presencia de radiolucidez fue mayor con la pasta CTZ que con la pulpectomía de manera significativa (84).

Siegl y col (2015). Evaluaron las radiolucencias en la furca y el comportamiento de molares deciduos tratados endodónticamente con diferentes técnicas simplificadas (G1: pasta Guedes-Pinto y G2: pasta CTZ) durante 12 meses. Observaron que los signos clínicos fueron similares en ambos grupos, sin embargo, los dientes tratados con CTZ mostraron una reducción del área radiolúcida en la furca después de 6 y 12 meses (56).

Grewal (2018). Realizó un estudio en el que demostró con un seguimiento de 36 meses con comparación entre la técnica de pulpectomía convencional y la LSTR (esterilización de lesiones y reparación de los tejidos) sólo un 6.8% de los dientes tratados con LSTR se asociaron con pérdida de hueso interradicular alrededor de la corona del sucesor permanente mientras que un 71% tratados con pulpectomía convencional reportaron alguna lesión al sucesor permanente (20).



## **CAPÍTULO 2**

### **1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La complicación pulpar en la dentición temporal sigue siendo un problema muy común en la dentición temporal, ya que sigue existiendo un alto índice de caries en los niños, según el Global Burden of Disease Study, en 2017, más de 530 millones de niños de todo el mundo tenían caries dental en los dientes primarios (85). En relación con los tratamientos pulpares, específicamente en las pulpectomías, una de las principales limitaciones en el éxito en el mismo, es la gran variabilidad anatómica de los conductos radiculares que provoca que sea muy difícil la completa desinfección de los mismos provocando las fallas de dichos tratamientos (34,35).

Una opción distinta para los problemas antes mencionados es la utilización de técnicas alternativas como lo son la pulpectomía no instrumentada, con diferentes tipos de medicamentos, que además de aportar un beneficio clínico también aporta incluso un beneficio económico, en especial para la población con difícil acceso a los servicios de salud (39).

La literatura refiere varias pastas antibióticas, una de ellas, la pasta CTZ, ha demostrado ser una de las que presentan mayor éxito clínico, algo que resulta importante destacar es que no existe una estandarización para el correcto almacenamiento del compuesto para así conocer si alguna de las variables en el entorno puede afectar considerablemente sus propiedades, además es importante evaluarlo a través del tiempo para que el operador tenga el conocimiento de cuánto tiempo es que puede seguir confiando en su efectividad posterior a su elaboración(59,60,61).

## **2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe una alteración significativa en la efectividad antimicrobiana de la pasta CTZ en relación a su tiempo de almacenamiento?

## **3. JUSTIFICACIÓN**

La pulpectomía, es un procedimiento del conducto radicular para eliminar el tejido pulpar que se encuentra infectado o necrótico debido a caries o trauma (31); la técnica más empleada es la instrumentación y desinfección de los conductos radiculares, pero, la dentición temporal al presentar una anatomía de difícil acceso, es difícil llegar a toda la superficie de estos, por tal motivo, se menciona a la técnica de no instrumentación una opción como auxiliar en la pulpectomía evitando la reinfección y que inclusive en zonas con poca acceso a servicios odontológicos tiene gran demanda por su facilidad y eficacia; en ésta técnica se emplea la pasta CTZ la cual está compuesta por un par de antibióticos y óxido de zinc de uso odontológico (34,35,45).

Hoy en día, la pasta CTZ ha podido demostrar su efectividad en el tratamiento de necrosis pulpar en dentición primaria. Aunque su empleo data del año 1959, hasta este momento no se tiene la suficiente información que sustente del todo su efectividad.

El establecer un tiempo para el almacenado en relación con la conservación de sus propiedades antimicrobianas basado en la investigación, además de dar certeza de su manejo adecuado para mejorar el pronóstico del tratamiento, permitirá considerarlo como una alternativa válida en la atención odontológica de zonas rurales o aisladas donde las facilidades operatorias no son posibles de considerar y proponerlo incluso como tipo de tratamiento para los servicios de salud dental públicos.

En el presente estudio se continuará con la investigación para tener información acerca de si el método de almacenamiento influye realmente en la disminución de las propiedades antimicrobianas del compuesto CTZ y se pretende dar a conocer el tiempo adecuado en que puede estar almacenado a partir de su elaboración para que pueda estar garantizada su efectividad y así poder tener un adecuado uso clínico.

## **4. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la actividad antibacteriana del compuesto CTZ en función de su almacenamiento posterior a 4 meses mediante un estudio in vitro.

## **5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar el efecto antibacteriano del CTZ posterior a 4 meses de almacenamiento.
- Evaluar la efectividad antibacteriana del CTZ posterior a un almacenamiento en un contenedor de cristal ámbar o uno transparente.
- Evaluar el efecto antimicrobiano del compuesto CTZ en las especies bacterianas *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis* y *E. coli*.

## **6. HIPÓTESIS**

La actividad antimicrobiana del CTZ se verá afectada debido al tiempo de almacenamiento resultando en zonas de inhibición menores cuando se utiliza 4 meses después en un frasco transparente.

# CAPÍTULO 3

## 1. METODOLOGÍA

### 1.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental. Evaluación del compuesto CTZ a partir de los 4 meses de su elaboración, durante 12 semanas.

#### 1.1.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

CTZ con sus componentes: Tetraciclina, Cloranfenicol y ZOE sin endurecedor, en proporción 1:1:2.

Especies bacterianas:

- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Staphylococcus aureus*.
- *Enterococcus faecalis*.
- *Escherichia coli*.

## 1.2. VARIABLES

### INDEPENDIENTES

- Condiciones de almacenamiento
- Tiempo de almacenamiento
- Especies bacterianas seleccionadas para el estudio.

### DEPENDIENTES

- Cambios estructurales del compuesto
- Zonas de inhibición bacteriana

**Tabla 1. Operacionalización de las variables**

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Unidad de medición</b>	<b>Naturaleza de la variable</b>	<b>Escala de medición</b>
Zonas de inhibición bacteriana	Diámetro de halo formado alrededor de los discos de papel(81).	Difusión en Agar.	mm (milímetros) vernier digital, calibrado, con exactitud de $\pm 0.03$ mm.	Cuantitativa continua	Intervalo
Tiempo	Duración de las cosas sujetas a mudanza (86).	20,22,24,26,28 semanas almacenado.	semanas	Cuantitativa discreta	Razón
Condición de almacenamiento	Estado, situación especial en que se halla algo(87).	Recipiente en el cual se almacenará.	Frasco de vidrio ámbar o transparente.	Cualitativa	Nominal

## 1.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN

### ○ CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Antibióticos componentes de la pasta CTZ que tengan al menos 12 meses antes de alcanzar su fecha de caducidad: cloranfenicol 250 mg, tetraciclina 250mg y óxido de zinc sin endurecedor.

Especies bacterianas que cumplan con los estándares para estos tipos de investigación: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*.

### ○ CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Especies bacterianas que no cumplan con los estándares para estos tipos de investigación.

### ○ CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Cajas de Petri con cepas contaminadas

Preparado de consistencia inadecuada.

Contaminación de cualquiera de los elementos de la pasta antibiótica

## 1.4. TAMAÑO DE MUESTRA

Tres discos de sensibilidad fueron impregnados de CTZ por cada cultivo de bacterias (Tabla 2). Se realizaron las pruebas cada dos semanas por 3 meses (Tabla 3).

**Tabla 2. Número de discos por prueba de sensibilidad**

<b>No. preparado</b>	<b>PREPARADO 1</b>		<b>PREPARADO 2</b>	
<b>Tipo de frasco</b>	Ámbar	Transparente	Ámbar	Transparente
<i>S. aureus</i>	3	3	3	3
<i>E. faecalis</i>	3	3	3	3
<i>E. coli</i>	3	3	3	3
<i>P. aeruginosa</i>	3	3	3	3
	<b>Total de discos por prueba</b>		<b>48</b>	

**Tabla 3. Cantidad total de discos evaluados**

<b>SEMANA</b>	20	22	24	26	28	<b>TOTAL</b>
<b>DISCOS</b>	48	48	48	48	48	<b>240</b>



## 1.5. MATERIALES

- Incubadora de cultivo INCUCCELL MMM Group.
- Gabinete de seguridad Thermo Scientific.
- Espectrofotómetro Multiskan Go.
- Autoclave CRISTÓFOLI.
- Vernier electrónico digital Control Company.

### **Medios de cultivo:**

Agar Mueller-Hinton OXOID.Inglaterra.

### **Componentes del CTZ:**

Cloranfenicol, laboratorio LIFERPAL, cápsulas de 250mg, no.de lote 18H088, caducidad agosto 2023.

Tetraciclina, laboratorio MAYO, cápsulas 500mg, no.de lote P15DS015, caducidad abril 2023.

Óxido de zinc sin endurecedor marca VIARDEN, caducidad noviembre 2021

Eugenol marca VIARDEN, caducidad octubre 2022.

### **Consumibles:**

- Hisopos, cajas de petri, pipetas estériles desechables, guantes, campos, discos de papel filtro, puntas de micro pipetas.

## 1.6. MÉTODO

### 1.6.1 PREPARACIÓN DEL CTZ

Se empleó tetraciclina y cloranfenicol en cápsulas de 250 mg (Figura 2 y 3).

Se realizaron dos preparados de la mezcla, en donde en cada formulación se realizó como sigue: La pasta CTZ se realiza en proporciones 1:1:2 siendo así para la formulación 1, en el cual se utilizaron 12 g de tetraciclina, 12 g de cloranfenicol y 24 g de ZOE sin endurecedor, los cuales fueron pesados en una balanza analítica (Figura 1 y 4). Los 48 g de CTZ se dividieron para colocar 21 g en un envase ámbar y 21 g en un frasco transparente. Por otro lado, 3 g fueron colocados en un frasco transparente y 3 g en un frasco ámbar para realizar el estudio de Espectroscopia de Infrarrojo (Figura 5).

Para la formulación 2, de igual forma que para la 1, se utilizaron 12 g de tetraciclina, 12 g de cloranfenicol y 24 g de ZOE sin endurecedor; los 48 g resultantes se dividieron para colocar 21 g en un envase ámbar y 21 g en un frasco transparente; 3 g fueron colocados en un frasco transparente y 3 g en un frasco ámbar para realizar el estudio de Espectroscopia de Infrarrojo (Figura 5).

**Figura 1. Óxido de zinc sin endurecedor y eugenol**



**Figura 2. Cloranfenicol**



**Figura 3. Tetraciclina**



**Figura 4. Balanza analítica**



**Figura 5. Compuesto CTZ separado y almacenado**



## 1.6.2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Se suspendieron 3.8 g de agar nutritivo Mueller-Hinton (MH) (Figura 6) por cada 100 ml de agua bidestilada en un matraz (Figura 7), posteriormente, se calentó hasta 100°C con agitación magnética y se dejó en ebullición durante 1 min hasta que estuvo totalmente disuelto. El matraz se colocó en la autoclave y se esterilizó a 121°C durante 15 min; se dejó enfriar y se colocaron 20 ml de agar en cada caja de petri de 10 cm de diámetro (Figura 8), por otro lado, se colocaron 10 ml de agar en 5 cajas de petri de 5 cm de diámetro para la elaboración del cultivo joven, una vez gelificadas, se sellaron, rotularon para llevar a refrigeración.

**Figura 6. Agar Mueller-Hinton y matraz de cristal**



**Figura 7 y 8. Elaboración de medios de cultivo a base de agar**



### 1.6.3 ELABORACIÓN DE CULTIVO JOVEN DE 24 HORAS

En la campana de bioseguridad previamente desinfectada con luz UV durante 10 min, se colocan las cajas de petri preparadas con agar nutritivo y se utilizó un asa metálica por cada especie de bacteria a inocular (Figura 10).

Se esterilizó el asa metálica en un mechero, se tomó la caja de petri con el agar MH y se colocaron los contenedores de bacteria (Figura 9), con ayuda del asa metálica se realizó un cultivo mediante la técnica de sembrado por estrías (Figura 11). Se esterilizó nuevamente el asa en el fuego, y se repitió este método para el inóculo de cada bacteria.

Cada caja de petri inoculada, se rotuló y selló con cinta parafilm y se colocaron en la incubadora de bacterias durante 24 hrs.

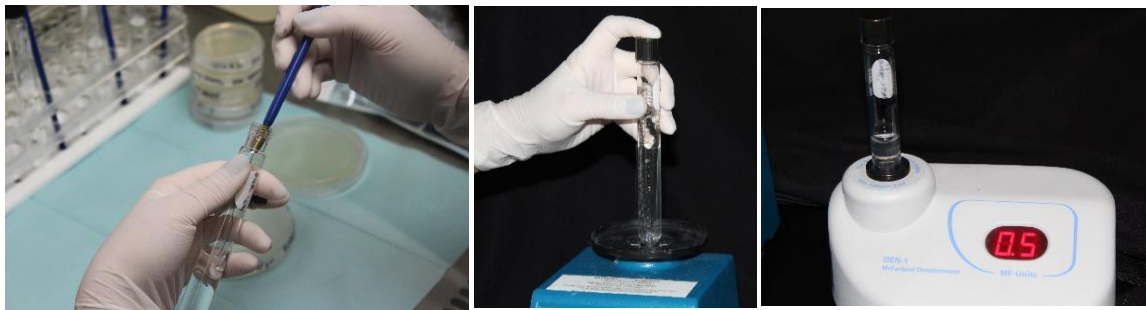
**Figura 9,10 y 11. Cepas bacterianas seleccionadas en su medio de conservación, trabajo en la campana de Gauss e inóculo de bacteria mediante técnica de estriado**



#### 1.6.4. ESTANDARIZACIÓN DE LA SUSPENSIÓN

Una vez realizado el cultivo joven de cada cepa bacteriana, se realizó en la campana electrónica el ajuste de la solución. En un tubo de ensayo estéril se colocaron 7ml de solución salina isotónica (0.85 % de cloruro de sodio) estéril, con ayuda de un asa metálica estéril se toman de 1 a 2 colonias bacterianas del cultivo joven seleccionado y se colocaron en el tubo de ensayo (Figura 12), agitando vigorosamente en vórtex por 15 s para homogeneizar la solución (Figura 13). Con ayuda de un densímetro o una escala estándar de McFarland, se ajustó a la densidad celular de 0.5 en dicha escala (Figura 14).

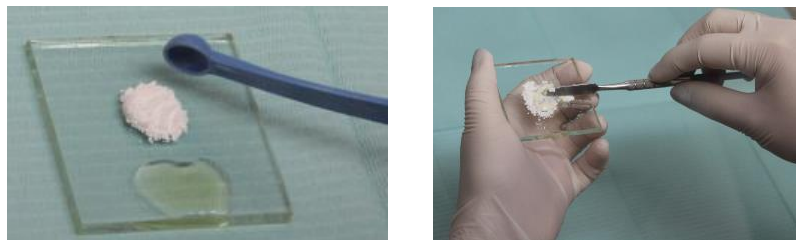
**Figura 12,13 y 14. Estandarización de la suspensión, agitación y densitómetro**



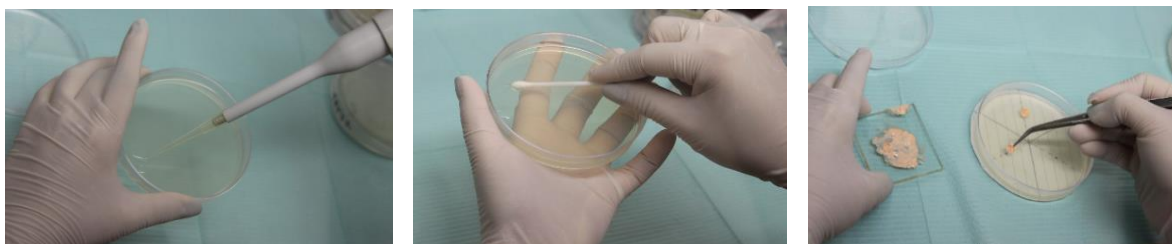
### 1.6.5. ELABORACIÓN DE ENSAYO ANTIMICROBIANO

Se colocaron 400µl de la solución previamente ajustada en cuatro cajas de Petri con agar MH (Figura 17), con ayuda de un hisopo estéril se realiza la técnica de sembrado por estrías (Figura 18); se colocaron tres discos de papel filtro estériles previamente impregnados con el compuesto CTZ (Figura 19) el cual consistió en 35 mg de polvo medido con una cucharilla prefabricada, al cual se colocaron 160 µl de eugenol (Figura 15 y 16), se rotuló y selló con cinta parafilm y se llevaron a la incubadora de bacterias a 37°C de 24 a 48 hrs. Se realizó el mismo procedimiento por cada cepa bacteriana.

**Figura 15 y 16. Porciones y mezcla del compuesto**



**Figura 17,18 y 19. Ajuste de solución, inóculo de bacterias y ensayo antimicrobiano**



Una vez transcurrido el tiempo en la incubadora se procedió a recabar, procesar e interpretar resultados.

Se tomaron 4 medidas de los diámetros de las zonas de inhibición por cada disco con ayuda de un vernier electrónico y se registraron en la base de datos de Excel.

Cada experimento iniciando desde el inóculo de bacterias, hasta la obtención de resultados se realizó cada 15 días por un periodo de 3 meses.

### **1.6.6. ANÁLISIS DE GRUPOS FUNCIONALES**

El análisis de grupos funcionales, se realizó en el laboratorio de espectroscopia del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM campus Juriquilla mediante espectroscopia de infrarrojo (FT-IR).

Las muestras fueron analizadas en un equipo de espectrofotómetro de infrarrojo Marca Bruker Modelo Vector 33, y una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  mediante la técnica de transmitancia total atenuada (ATR); para la cual, las muestras solamente fueron colocadas en el cristal.

### **1.7. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

Los datos de las medidas de las zonas de inhibición fueron registrados en una base de datos en Excel.

Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA de Una Vía ( $p < 0.05$ ), además, se realizaron contrastes post- hoc de comparación múltiple de Tukey, Dunnett y Sidak; se empleó Graphad Prism 5 e IBM SPSS Statistics 26.

### **1.8. INFRAESTRUCTURA**

- Laboratorio de Investigación interdisciplinaria ENES UNAM León.
- Laboratorio de Espectroscopia del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM campus Juriquilla.

# CAPÍTULO 4

## 1. RESULTADOS

Se registraron las zonas de inhibición bacteriana quincenalmente de cada cepa a evaluar, se tomaron registros fotográficos de las más representativas en cada grupo, posteriormente, se registraron en la base de datos de Excel.

Se realizó análisis ANOVA de Una vía para comparar la media de más de dos grupos y con tamaños de muestra similares (Tabla 4). Fue realizado el análisis para observar si entre los grupos (FA) frasco ámbar y (FT) frasco transparente, hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) a la semana 20, 22, 24, 26 y 28.

**Tabla 4. ANOVA de Una vía entre la media de cada grupo de bacterias**

	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<b>Número de muestras</b>	10	10	10	10
<b>Número de valores</b>	240	240	240	240
<b>Diferencia significativa de medias (<math>p &lt; 0.05</math>)</b>	Si	Si	Si	Si

En el caso de *S. aureus*, la media de la semana 20(S20) del grupo A (ámbar) fue de  $37.80 \pm 4.20$ ; del grupo T (transparente) fue de  $38.51 \pm 3.15$ ; en la semana 28 (S28) la media del grupo A fue de  $35.51 \pm 3.52$  y la del grupo T fue de  $35.43 \pm 2.16$ . Al realizar ANOVA de una vía, se obtuvo diferencia significativa en ambos grupos; el grupo ámbar con un valor de  $p=0.043$  y el grupo transparente con valor de  $p=0.001$ . ( $p < 0.05$ ) (Tabla 5). Lo que quiere decir que hubo una disminución de la media de las zonas de inhibición bacteriana en ambos grupos, comparando la primera semana con la última semana de evaluación para *S. aureus*.



**Tabla 5. Estadística descriptiva de *S. aureus***

	20A	20T	22A	22T	24A	24T	26A	26T	28A	28T
Número de valores	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Mínimo	26.33	31.32	28.32	33.76	29.45	34.25	31.45	32.22	30.28	31.09
Media	37.78	38.5183	38.8696	37.5196	35.5254	39.5392	36.5142	36.4137	35.5129	35.4363
Máximo	45.01	46.31	49.28	43.76	49.22	45.49	40.67	42.63	47.57	38.64
Desviación estándar	4.20733	3.15615	4.40748	2.85943	6.64443	3.72580	2.69409	2.97707	3.52370	2.16963

En *E. faecalis*, la media de la semana 20(S20) del grupo A fue de  $31.87 \pm 1.97$ ; del grupo T fue de  $30.50 \pm 1.72$ ; en la semana 28 (S28) la media del grupo A fue de  $31.35 \pm 1.97$  y la del grupo T fue de  $30.05 \pm 3.03$ . Al realizar ANOVA de Una Vía, se obtuvo diferencia significativa en ambos grupos; el grupo ámbar con un valor  $p=0.001$  y el grupo transparente con un valor  $p=0.016$ . ( $p<0.05$ ) (Tabla 6). Lo que quiere decir que hubo una disminución de la media de las zonas de inhibición bacteriana en ambos grupos, comparando la primera semana con la última semana de evaluación para *E. faecalis*.

**Tabla 6. Estadística descriptiva de *E. faecalis***

	20A	20T	22A	22T	24A	24T	26A	26T	28A	28T
Número de valores	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Mínimo	27.91	28.17	30.68	28.56	20.53	24.09	28.19	25.55	25.53	22.62
Media	31.8733	30.5029	32.5600	32.4037	27.5471	32.3946	32.0429	30.7775	31.3533	30.0550
Máximo	35.34	33.68	34.79	36.71	33.81	40.69	36.59	34.30	34.37	35.62
Desviación estándar	1.97620	1.72901	1.13195	1.89469	3.98595	5.11498	1.79236	1.89713	1.97288	3.03027

En *E. coli*, la media de la semana 20(S20) del grupo A fue de  $36.16 \pm 2.85$ ; del grupo T fue de  $37.34 \pm 2.57$ ; en la semana 28 (S28) la media del grupo A fue de  $35.46 \pm 2.06$  y la del grupo T fue de  $36.15 \pm 2.82$ . Al realizar ANOVA de Una Vía, se obtuvo diferencia significativa en el grupo ámbar con valor  $p=0.001$ . ( $p<0.05$ ) (Tabla 7). Lo que quiere decir que hubo una disminución de la media de las zonas de inhibición bacteriana en ambos grupos, comparando la primera semana con la última semana de evaluación para *E. coli*.

**Tabla 7. Estadística descriptiva de *E. coli***

	20A	20T	22A	22T	24A	24T	26A	26T	28A	28T
<b>Número de valores</b>	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
<b>Mínimo</b>	29.79	32.47	34.47	31.19	33.38	31.48	32.24	33.63	32.24	26.52
<b>Media</b>	36.1654	37.3450	39.6721	37.8442	37.6746	38.2688	38.5013	37.3208	35.4675	36.1562
<b>Máximo</b>	41.72	43.24	47.79	42.57	43.83	43.48	44.31	42.15	39.04	40.48
<b>Desviación estándar</b>	2.85626	2.57161	2.98724	3.30480	2.79295	3.11297	3.06654	2.13839	2.06657	2.82413

En *P.aeruginosa*, la media de la semana 20(S20) del grupo A fue de  $31.68 \pm 3.44$ ; del grupo T fue de  $30.64 \pm 2.50$ ; en la semana 28 (S28) la media del grupo A fue de  $33.13 \pm 1.62$  y la del grupo T fue de  $30.64 \pm 1.64$ . Al realizar ANOVA de Una Vía, se obtuvo diferencia significativa en ambos grupos; tanto el grupo ámbar como el transparente con un valor  $p=0.001$ . ( $p<0.05$ ) (Tabla 8). Lo que quiere decir que hubo una disminución de la media de las zonas de inhibición bacteriana en ambos grupos, comparando la primera semana con la última semana de evaluación para *P. aeruginosa*.

**Tabla 8. Estadística descriptiva de *P. aeruginosa***

	20A	20T	22A	22T	24A	24T	26A	26T	28A	28T
<b>Numero de valores</b>	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
<b>Mínimo</b>	28.20	26.46	30.03	29.16	28.73	28.46	30.60	29.75	30.00	26.84
<b>Media</b>	31.6838	30.6483	32.5433	32.8333	36.5617	32.3717	34.1025	32.1208	33.1358	30.6421
<b>Máximo</b>	46.13	37.44	36.67	36.12	51.02	35.54	37.64	34.94	35.77	33.68
<b>Desviación estándar</b>	3.44691	2.50459	1.39958	1.61866	6.86080	1.84890	1.78192	1.53246	1.62456	1.64914

Al realizar el análisis ANOVA de Una vía para cada especie bacteriana, se obtuvo diferencia estadísticamente significativa al menos en un grupo de los microorganismos analizados ( $p\leq 0.05$ ); por ello, se decidió utilizar contrastes post-hoc de comparación múltiple (Dunnett, Sidak y Tukey) para saber en qué comparación entre grupos se encontraba la significancia.

## 1.1. EFECTO ANTIMICROBIANO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO

Se separaron los resultados obtenidos del grupo A (ámbar) y grupo T (transparente). Previamente realizado el análisis ANOVA de Una vía, se procedió a realizar el análisis de comparación múltiple de Dunnet, para evaluar si existía diferencia significativa en la inhibición bacteriana obtenida en las pruebas realizadas (semana 22, 24, 26 y 28) siempre comparándola con la semana inicial (semana 20), se realizó de la misma forma tanto para el grupo A como para el grupo T y la comparación se realizó entre cepa bacteriana.

Los resultados significativos ( $p < 0.05$ ) fueron en *S. aureus* en la semana 26 y 28 del grupo A; en la semana 24 del grupo A de *E. faecalis*, en el grupo A de *E. coli* semana 22 y 26; en *P. aeruginosa* en el grupo A de la semana 24 y en el grupo T semana 22, 24 y 26. A continuación se detallan los valores obtenidos por cepa bacteriana.

## Staphylococcus aureus

### Grupo A:

En el grupo A, las medias de las zonas de inhibición bacteriana disminuyeron en las semanas 24, 26 y 28, con respecto a la media de la semana inicial; mientras que aumentó solamente en la semana 22 (Figura 20).

No se mostraron datos estadísticamente significativos en este grupo.

(Tabla 9).

Figura 20. Gráfica del grupo A de *S. aureus*

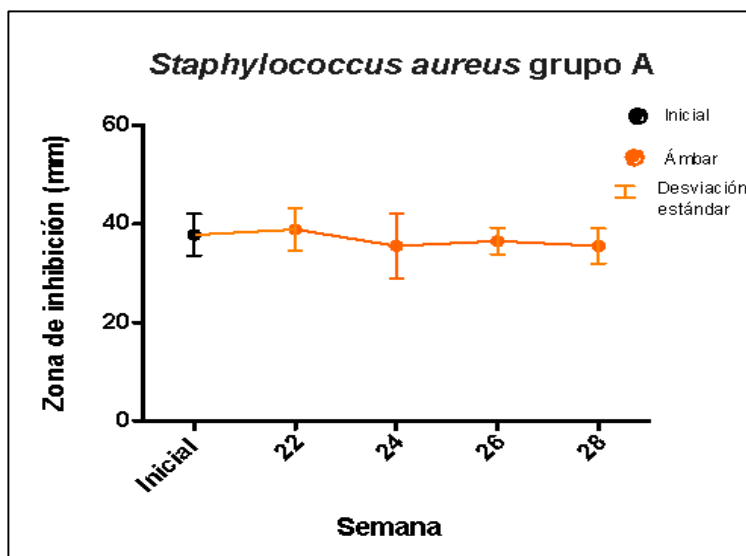


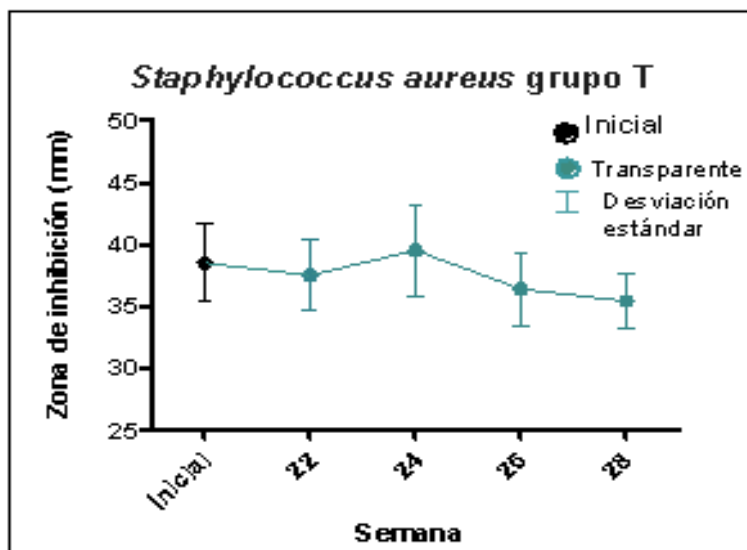
Tabla 9. Análisis de comparación múltiple de Dunnett del grupo A de *S. aureus*

Comparación múltiple de Dunnett	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
Inicial vs 22A	37.7800	38.8696	1.08958	-2.1223 a 4.3015	.816	No
Inicial vs 24A	37.7800	35.5254	-2.25458	-5.4665 a .9573	.248	No
Inicial vs 26A	37.7800	36.5142	-1.26583	-4.4777 a 1.9460	.728	No
Inicial vs 28A	37.7800	35.5129	-2.26708	-5.4790 a .9448	.244	No

## Grupo T:

Figura 21. Gráfica del grupo T de *S. aureus*

En el grupo T, las medias que disminuyeron respecto a la semana inicial fueron las de la semana 22, 26 y 28; se muestra un aumento en la semana 24 (Figura 21).



Se encontraron datos

con diferencia estadísticamente significativa 1) en la semana 26 con una diferencia de medias de -2.10458 y un valor ( $p=.058$ ); 2) en la semana 28 con una diferencia de medias de -3.08208 y un valor ( $p=.002$ ) (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de comparación múltiple de Dunnett del grupo T de *S. aureus*

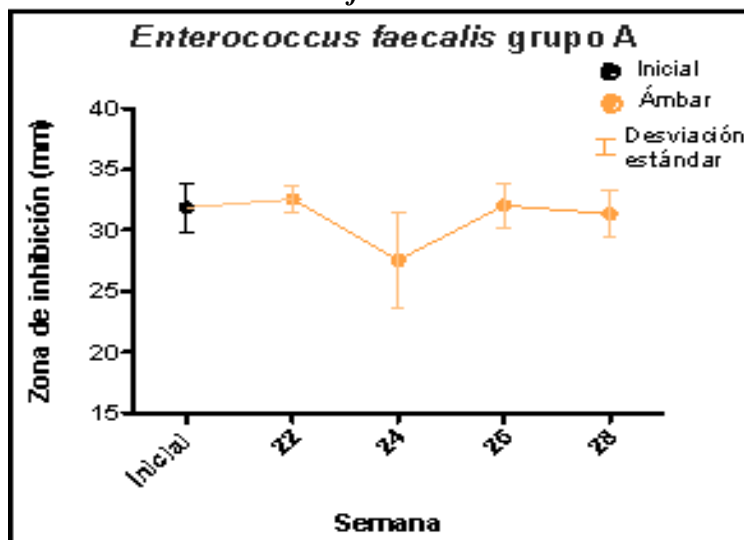
Comparación múltiple de Dunnett	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
Inicial vs 22T	38.5183	37.5196	-0.99875	-3.1572 a 1.1597	.608	No
Inicial vs 24T	38.5183	39.5392	1.02083	-1.1376 a 3.1793	.590	No
Inicial vs 26T	38.5183	36.4138	-2.10458	-4.2630 a .0538	.058	Si
Inicial vs 28T	38.5183	35.4363	-3.08208*	-5.2405 a -.9237	.002	Si

## Enterococcus faecalis

### Grupo A:

En el grupo A, las medias que disminuyeron con respecto a la semana inicial fue la de la semana 24, mientras que las que se vieron aumentadas fueron las de la semana 22 y 26 (Figura 22).

Figura 22. Gráfica del grupo A de *E. faecalis*



Se encontraron valores

con diferencia estadísticamente significativa en la semana 24 con una diferencia entre medias de -4.32625 y un valor ( $p=0.001$ ) (Tabla 11).

Tabla 11. Análisis de comparación múltiple de Dunnett del grupo A de *E. faecalis*

Comparación múltiple de Dunnett	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
Inicial vs 22A	31.8733	32.5600	.68667	-1.0103 a 2.3836	.710	No
Inicial vs 24A	31.8733	27.5471	-4.32625*	-6.0232 a -2.6293	.001	Si
Inicial vs 26A	31.8733	32.0429	.16958	-1.5274 a 1.8665	.997	No
Inicial vs 28A	31.8733	31.3533	-.52000	-2.2170 a 1.1770	.863	No

## Grupo T:

En el grupo T, las medias que aumentaron fueron las de la semana 22, 24, 26 con respecto a la semana inicial; la media de la semana 28 apenas y disminuyó (Figura 23). No se encontraron valores con diferencia estadísticamente significativa en este grupo. (Tabla 12).

Figura 23. Gráfica del grupo T de *E. faecalis*

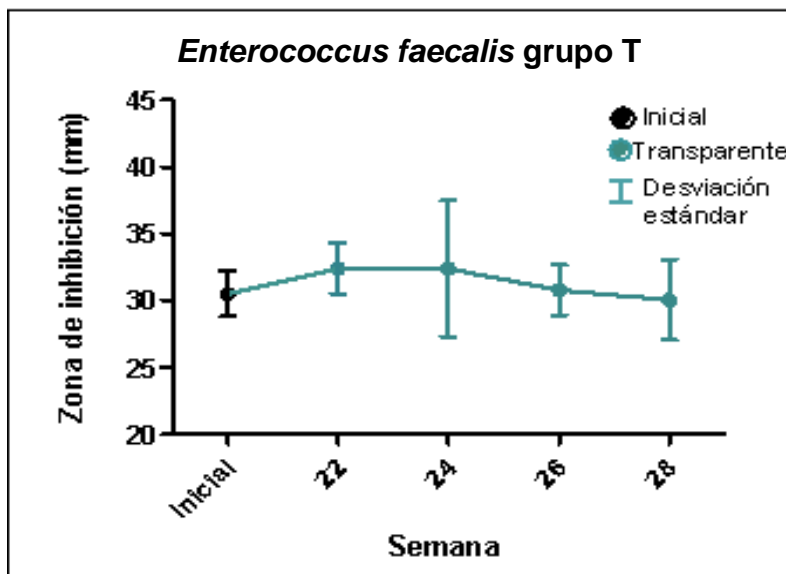


Tabla 12. Análisis de comparación múltiple de Dunnett del grupo T de *E. faecalis*

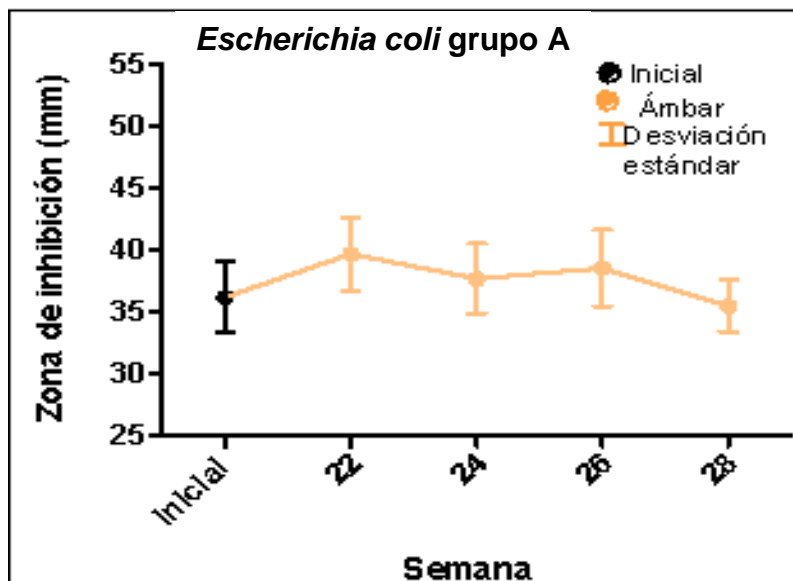
Comparación múltiple de Dunnett	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
Inicial vs 22A	30.5029	32.4037	1.90083	-.2560 a 4.0577	.100	No
Inicial vs 24A	30.5029	32.3946	1.89167	-.2652 a 4.0485	.103	No
Inicial vs 26A	30.5029	30.7775	.27458	-1.8823 a 2.4315	.993	No
Inicial vs 28A	30.5029	30.0550	-.44792	-2.6048 a 1.7090	.961	No

## *Escherichia coli*

### Grupo A:

En el grupo A, la diferencia de medias se vio aumentada en la semana 22, 24 y 26; disminuyó solo en la semana 28, esto con respecto a la semana inicial (Figura 24).

Figura 24. Gráfica del grupo A de *E. coli*



Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la semana 22, con una diferencia de medias de 3.50667 y un valor ( $p=.001$ ); así como en la semana 26 con una diferencia de media de 2.33583 y un valor ( $p=.015$ ) (Tabla 13).

Tabla 13. Análisis de comparación múltiple de Dunnett del grupo A de *E. coli*

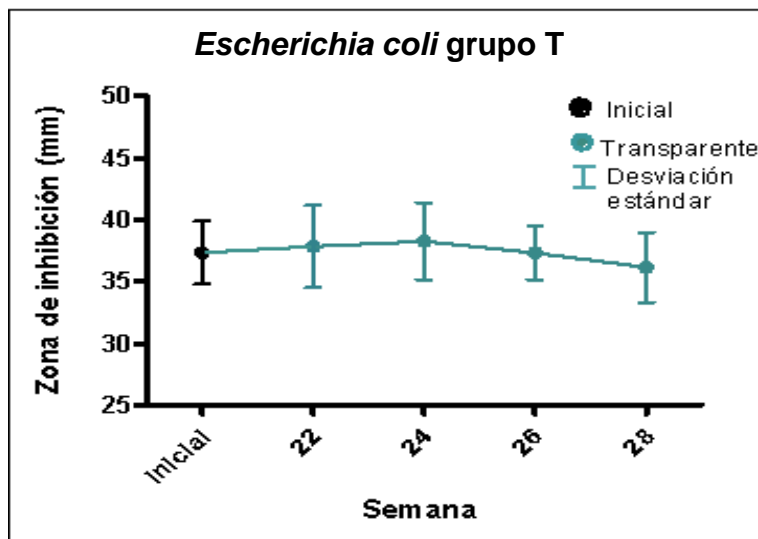
Comparación múltiple de Dunnett	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
Inicial vs 22A	36.1654	39.6721	3.50667*	1.5217 a 5.4916	.001	Si
Inicial vs 24A	36.1654	37.6746	1.50917	-.4758 a 3.4941	.189	No
Inicial vs 26A	36.1654	38.5013	2.33583*	.3509 a 4.3208	.015	Si
Inicial vs 28A	36.1654	35.4675	-.69792	-2.6829 a 1.2871	.797	No



## Grupo T:

Figura 25. Gráfica del grupo T de *E. coli*

En el grupo T, las medias de las zonas de inhibición disminuyeron apenas en la semana 26 y 28; mientras que hubo un aumento en la semana 22 y 24, esto en comparación con la semana inicial (Figura 25).



No se observaron valores con diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos. (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis de comparación múltiple de Dunnett del grupo T de *E. coli*

Comparación múltiple de Dunnett	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
Inicial vs 22A	37.3450	37.8442	.49917	-1.5169 a 2.5152	.929	No
Inicial vs 24A	37.3450	38.2688	.92375	-1.0923 a 2.9398	.616	No
Inicial vs 26A	37.3450	37.3208	-.02417	-2.0402 a 1.9919	1.000	No
Inicial vs 28A	37.3450	36.1563	-1.18875	-3.2048 a .8273	.396	No

## *Pseudomonas aeruginosa*

### Grupo A:

En el grupo A, se observa un aumento en los valores de las medias en la semana 22, 24, 26 y 28 (Figura 26); se mostró una diferencia estadísticamente significativa a la semana 24, con una diferencia entre medias de 4.87792 y un valor ( $p=0.001$ ) (Tabla 15).

Figura 26. Gráfica del grupo A de *P. aeruginosa*

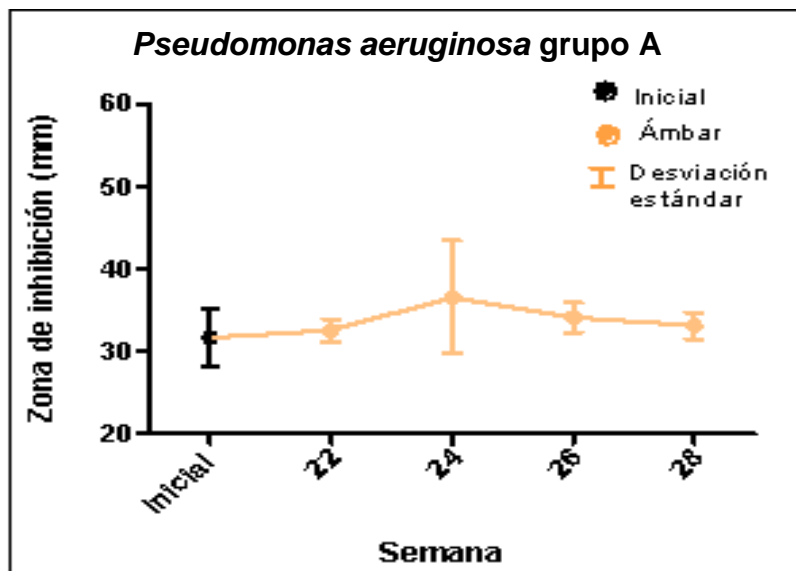


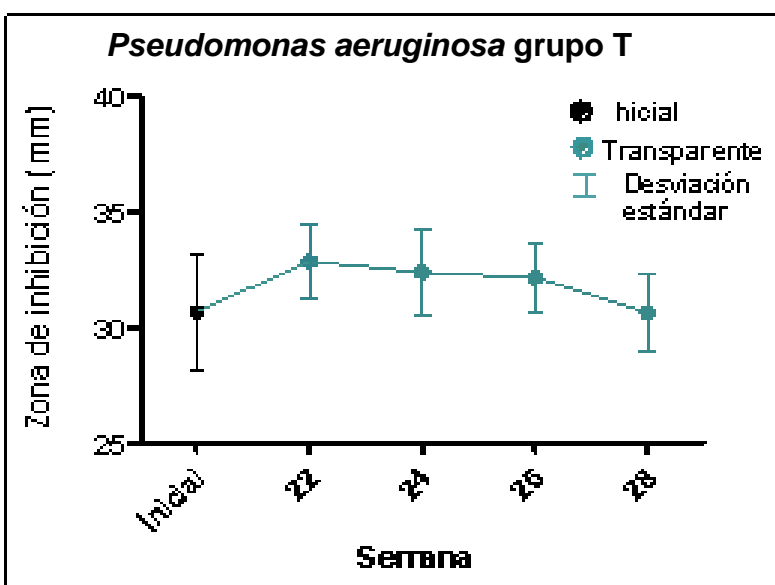
Tabla 15. Análisis de comparación múltiple de Dunnett del grupo A de *P. aeruginosa*

Comparación múltiple de Dunnett	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
Inicial vs 22A	31.6838	32.5433	.85958	-1.7517 a 3.4708	.831	No
Inicial vs 24A	31.6838	36.5617	4.87792*	2.2667 a 7.4892	.001	Si
Inicial vs 26A	31.6838	34.1025	2.41875	-.1925 a 5.0300	.078	No
Inicial vs 28A	31.6838	33.1358	1.45208	-1.1592 a 4.0633	.449	No

## Grupo T:

En el grupo T, se muestra un aumento en las medias de la semana 22, 24 y 26 y apenas una disminución en la semana 28, en comparación con la semana inicial (Figura 27).

Figura 27. Gráfica del grupo T de *P. aeruginosa*



Se observó una diferencia estadísticamente significativa en 1) semana 22 con diferencia de media de 2.18500 y un valor ( $p=0.001$ ), 2) semana 24 con diferencia de media de 1.72333 y un valor ( $p=.007$ ), 3) semana 26 con diferencia de media de 1.47250 y un valor ( $p=.025$ ) (Tabla 16).

Tabla 16. Análisis de comparación múltiple de Dunnett del grupo T de *P. aeruginosa*

Comparación múltiple de Dunnett	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
Inicial vs 22A	30.6483	32.8333	2.18500*	.8523 a 3.5177	.001	Si
Inicial vs 24A	30.6483	32.3717	1.72333*	.3907 a 3.0560	.007	Si
Inicial vs 26A	30.6483	32.1208	1.47250*	.1398 a 2.8052	.025	Si
Inicial vs 28A	30.6483	30.6421	-.00625	-1.3389 a 1.3264	1.000	No

La diferencia entre las medias iniciales (semana 20) en comparación con las otras semanas, muestra una diferencia significativa de forma un tanto repetitiva en la semana 24, aunque, además en algunos casos se observan diferencias significativas en la semana 26 y 28.

## **1.2. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO SEGÚN LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO**

Para evaluar el efecto antibacteriano del CTZ en función de las condiciones de almacenamiento, se realizó un análisis de comparación múltiple de Sidak, en el cual se analizó la media obtenida de cada semana del grupo A y en comparación con la media de la misma semana del grupo T; se realizó en cada especie bacteriana.

Se tomaron en cuenta únicamente las comparaciones con significancia estadística ( $p < 0.05$ ). Se obtuvo diferencia significativa en el grupo A y T de la semana 24 en *E. faecalis*, en ésta la media del grupo T fue mayor; también se encontró diferencia significativa en el grupo A y T de la semana 24 en la especie bacteriana *P. aeruginosa*, en este caso, la media del grupo ámbar fue mayor.

## Staphylococcus aureus

Figura 28. Gráfica del grupo A y el grupo T de *S. aureus*

Al realizar la comparación de los grupos A con los grupos T de cada semana (Figura 28), no se observó diferencia estadísticamente significativa en ninguno de los grupos, tomando en cuenta que los valores de P deberían ser ( $p = <0.05$ ) (Tabla 17).

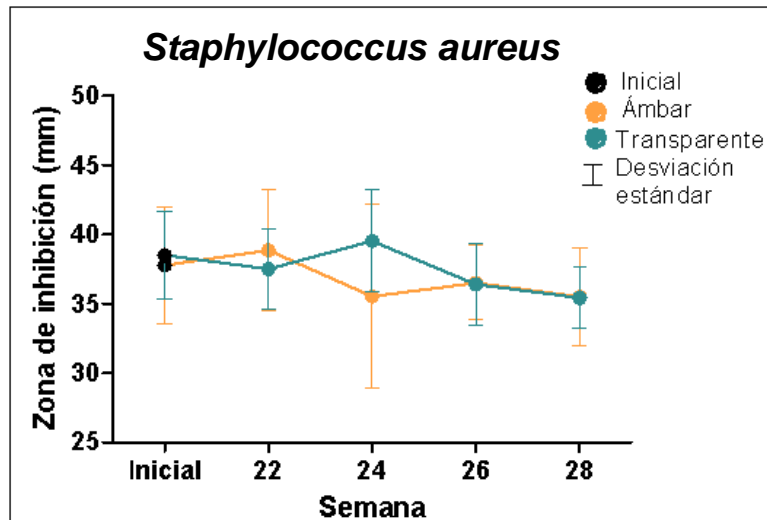


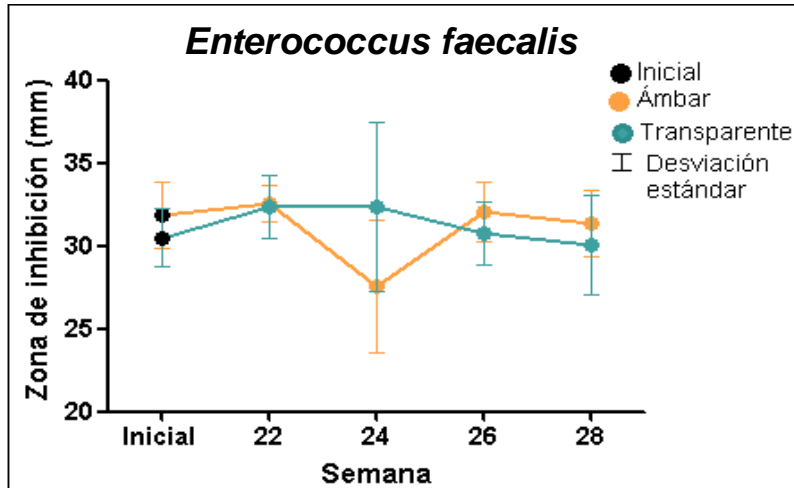
Tabla 17. Análisis de comparación múltiple de Sidak entre el grupo A y el grupo T de *S. aureus*

Comparación múltiple de Sidak	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
20A vs 20T	37.7800	38.5183	-.73833	-4.3797 a 2.9030	1.000	No
22A vs 22T	38.8696	37.5196	1.35000	-2.2913 a 4.9913	1.000	No
24A vs 24T	35.5254	39.5392	-4.01375*	-7.6551 a -.3724	.015	Si
26A vs 26T	36.5142	36.4138	.10042	-3.5409 a 3.7417	1.000	No
28A vs 28T	35.5129	35.4363	.07667	-3.5647 a 3.7180	1.000	No

## ***Enterococcus faecalis***

**Figura 29. Gráfica del grupo A y el grupo T de *E. faecalis***

Comparando el grupo A con el grupo T de *Enterococcus faecalis* de cada semana (Figura 29), se encontró significancia estadística en la semana 24, con una diferencia de media del grupo T mayor que



la del grupo A (diferencia de -4.84750 mm,  $p=0.001$ ) (Tabla 18)

**Tabla 18. Análisis de comparación múltiple de Sidak entre el grupo A y el grupo T de *E. faecalis***

Comparación múltiple de Sidak	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
20A vs 20T	31.8733	30.5029	1.37042	-1.2120 a 3.9528	.978	No
22A vs 22T	32.5600	32.4037	.15625	-2.4262 a 2.7387	1.000	No
24A vs 24T	27.5471	32.3946	-4.84750	-7.4299 a -2.2651	0.001	Si
26A vs 26T	32.0429	30.7775	1.26542	-1.3170 a 3.8478	.994	No
28A vs 28T	31.3533	30.0550	1.29833	-1.2841 a 3.8807	.991	No

## Escherichia coli

Al realizar la comparación en Escherichia coli, de los grupos T con los grupos A de cada semana (Figura 30), no se encontró significancia estadística valor ( $p < 0.05$ ) (Tabla 19).

Figura 30. Gráfica del grupo A y el grupo T de *E. coli*

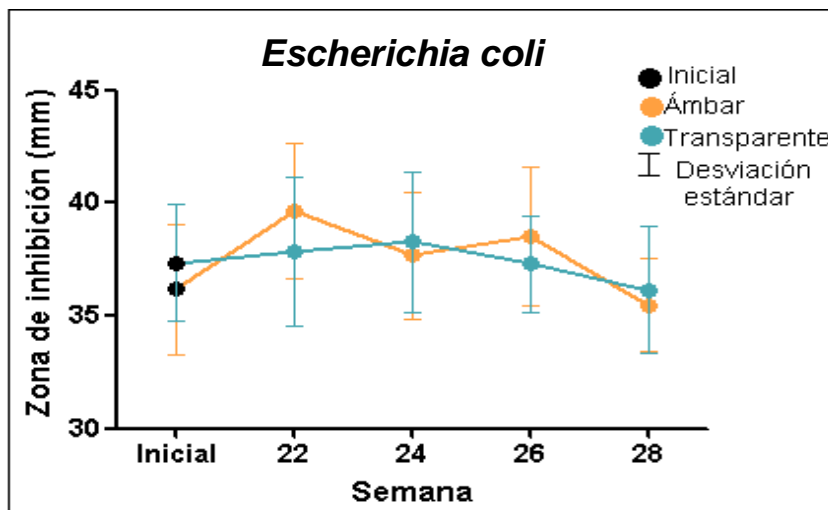


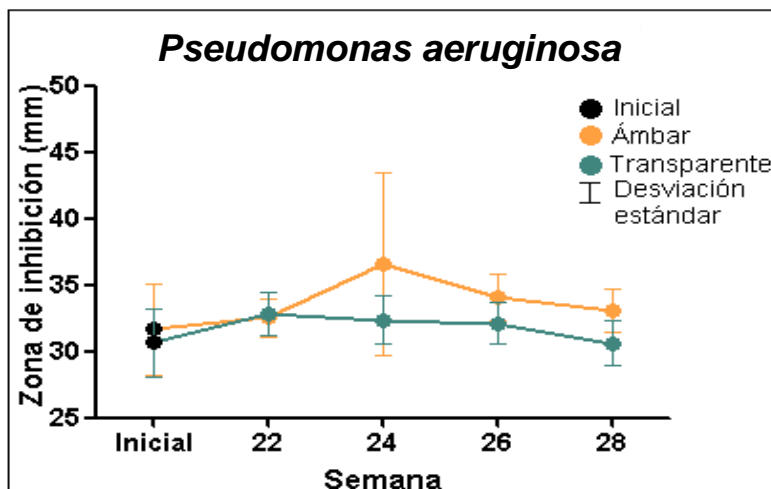
Tabla 19. Análisis de comparación múltiple de Sidak entre el grupo A y el grupo T de *E. coli*

Comparación múltiple de Sidak	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
20A vs 20T	36.1654	37.3450	-1.17958	-3.8418 a 1.4827	.999	No
22A vs 22T	39.6721	37.8442	1.82792	-.8343 a 4.4902	.674	No
24A vs 24T	37.6746	38.2688	-.59417	-3.2564 a 2.0681	1.000	No
26A vs 26T	38.5013	37.3208	1.18042	-1.4818 a 3.8427	.999	No
28A vs 28T	35.4675	36.1563	-.68875	-3.3510 a 1.9735	1.000	No

## ***Pseudomonas aeruginosa***

Al realizar la comparación entre los grupos A y los grupos T de cada semana (Figura 31), se encontró significancia estadística en la semana 24, con un valor de media mayor en el grupo A que en el grupo T (diferencia de 4.19000,  $p= 0.001$ ) (Tabla 20)

**Figura 31. Gráfica del grupo A y el grupo T de *P. aeruginosa***



**Tabla 20. Análisis de comparación múltiple de Sidak entre el grupo A y el grupo T de *P. aeruginosa***

Comparación múltiple de Sidak	Media 1 (Semana inicial)	Media 2 (Semana de contraste)	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
20A vs 20T	31.6838	30.6483	1.03542	-1.7232 a 3.7940	1.000	No
22A vs 22T	32.5433	32.8333	-.29000	-3.0486 a 2.4686	1.000	No
24A vs 24T	36.5617	32.3717	4.19000	1.4314 a 6.9486	0.001	Si
26A vs 26T	34.1025	32.1208	1.98167	-.7770 a 4.7403	.574	No
28A vs 28T	33.1358	30.6421	2.49375	-.2649 a 5.2524	.134	No



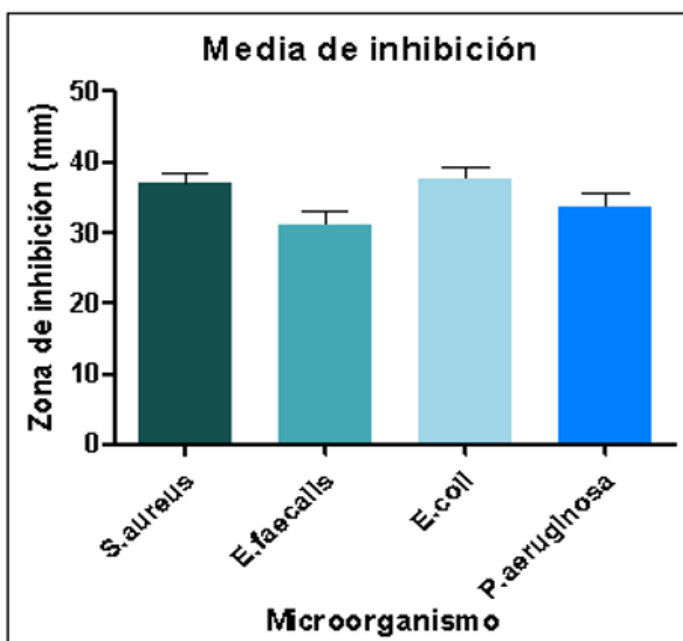
### 1.3. EFECTO ANTIMICROBIANO DEL COMPUESTO CTZ EN CADA ESPECIE BACTERIANA

Para analizar el efecto antimicrobiano de cada especie estudiada, se realizó el análisis de comparación múltiple de Tukey, para el cual, se tomó la media obtenida de los resultados a la semana 20, 22,24,26 y 28 y se agruparon de acuerdo a su cepa y modo de almacenamiento.

- **Grupo ámbar**

La especie bacteriana con la mayor media de inhibición durante todo el estudio fue *Escherichia coli*, con una media de 37.49mm  $\pm$  1.70, seguido por *Staphylococcus aureus* con una media de 36.83mm  $\pm$  1.46, posteriormente, *Pseudomonas aeruginosa* con una media de 33.60 mm  $\pm$  1.87 y por último *Enterococcus faecalis* con una media de 31.07mm  $\pm$  2.01. (Figura 32).

Figura 32. Gráfica de medias de zona de inhibición del grupo ámbar por microorganismo



Se observó diferencia estadísticamente significativa en la comparación entre las medias de los microorganismos: *S. aureus* con *E. faecalis* (diferencia de 5.760,  $p < 0.001$ ); en *S. aureus* con *P. aeruginosa* (diferencia de 3.230,  $p < 0.05$ ); en *E. faecalis* con *E. coli* (diferencia de -6.42,  $p < 0.001$ ); y, en *E. coli* con *P. aeruginosa* (diferencia de 3.89,  $p < 0.05$ ). *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* fueron los

microorganismos que mostraron una mayor inhibición bacteriana, mientras que *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis* mostraron una menor inhibición bacteriana durante todo el estudio, siendo almacenados en un medio de almacenamiento ámbar (Tabla 21).

**Tabla 21. Análisis de comparación múltiple de Tukey entre la media de zona de inhibición obtenida por cada microorganismo para el grupo ámbar**

Comparación múltiple de Tukey, grupo ámbar.	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
<i>S. aureus</i> vs <i>E. Faecalis</i>	5.760	2.544 a 8.976	***	Si
<i>S. aureus</i> vs <i>E.coli</i>	-0.6612	-3.877 a 2.555	ns	No
<i>S. aureus</i> vs <i>P. aeruginosa</i>	3.230	0.01361 a 6.445	*	Si
<i>E. faecalis</i> vs <i>E.coli</i>	-6.421	-9.637 a -3.205	***	Si
<i>E. faecalis</i> vs <i>P.aeruginosa</i>	-2.530	-5.746 a 0.6858	ns	No
<i>E.coli</i> vs <i>P. aeruginosa</i>	3.891	0.6748 a 7.107	*	Si

\*= p<0.05

\*\*= p< 0.01

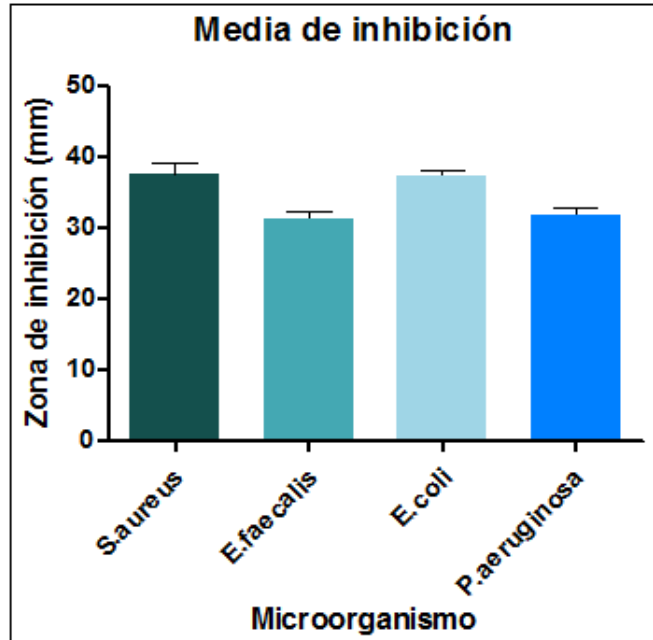
\*\*\*= p<0.001

ns=no significativo

- **Grupo transparente**

En este grupo, la especie bacteriana con la mayor media de inhibición durante todo el estudio fue *Staphylococcus aureus* con una media de  $37.48 \pm 1.63$ ; seguido por *Escherichia coli* con una media de  $37.38 \pm 0.79$ , en tercer lugar *Pseudomonas aeruginosa* con una media de  $31.72 \pm 1.01$  y, *Enterococcus faecalis* con una media de  $31.22 \pm 1.10$ . (Figura 33).

**Figura 33. Gráfica de medias de zona de inhibición de grupo transparente por microorganismo**



Se observó diferencia estadísticamente significativa en la comparación entre las medias de los microorganismos: *S. aureus* con *E. faecalis* (diferencia de 6.259,  $p < 0.001$ ); en *S. aureus* con *P. aeruginosa* (diferencia de 5.762,  $p < 0.001$ ); en *E. faecalis* con *E. coli* (diferencia de -6.160,  $p < 0.001$ ); y en *E. coli* con *P. aeruginosa* (diferencia de 5.664,  $p < 0.001$ ). *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* mostraron una mayor media de inhibición bacteriana, mientras que *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis* mostraron una menor inhibición bacteriana durante todo el estudio, en un medio de almacenamiento transparente (Tabla 22).

**Tabla 22. Análisis de comparación múltiple de Tukey entre la media de zona de inhibición obtenida por cada microorganismo para el grupo transparente**

Comparación múltiple de Tukey, frasco transparente.	Diferencia de media	Intervalo de confianza 95%	Valor p	Significancia estadística
<i>S. aureus</i> vs <i>E. faecalis</i>	6.259	4.131 a 8.386	***	Si
<i>S. aureus</i> vs <i>E.coli</i>	0.09842	-2.029 a 2.226	ns	No
<i>S. aureus</i> vs <i>P. aeruginosa</i>	5.762	3.634 a 7.890	***	Si
<i>E. faecalis</i> vs <i>E.coli</i>	-6.160	-8.288 a -4.033	***	Si
<i>E. faecalis</i> vs <i>P. aeruginosa</i>	-0.4965	-2.624 a 1.631	ns	No
<i>E.coli</i> vs <i>P.aeruginosa</i>	5.664	3.536 a 7.791	***	Si

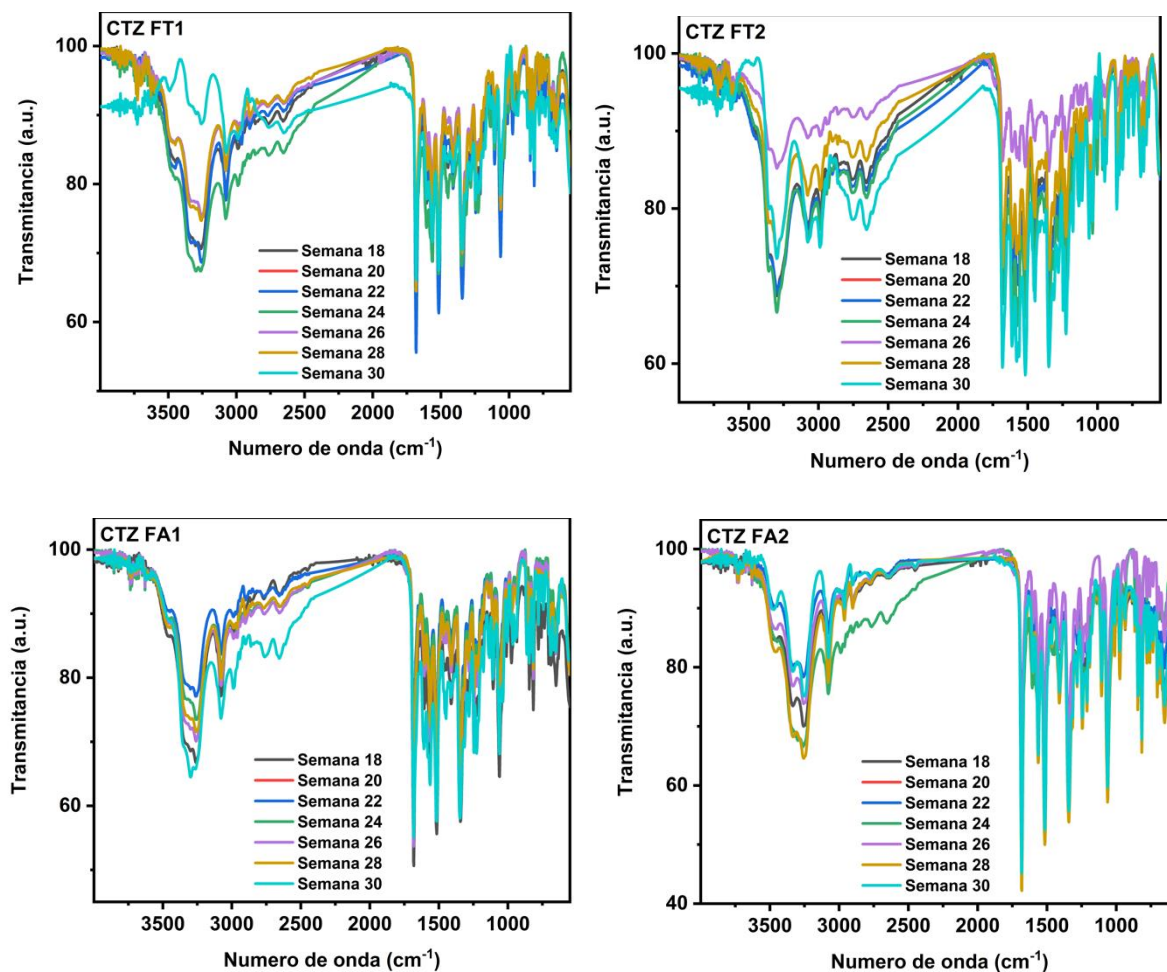
<p>*= p&lt;0.05</p> <p>**= p&lt; 0.01</p> <p>***= p&lt;0.001</p> <p>ns=no significativo</p>
---

## 1.4. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO

El estudio de espectroscopia de infrarrojo se realizó para evaluar los cambios estructurales que podía llegar a presentar el compuesto CTZ conforme transcurría el tiempo de almacenamiento y era expuesto parcial o completamente a la luz ambiental.

Se comparó gráficamente a los compuestos FT (frasco transparente) y FA (frasco ámbar) tanto la mezcla 1 (FT1 y FT2) como la mezcla 2 (FA1 y FA2) cada dos semanas.

Figura 34. Espectroscopía de infrarrojo



En las gráficas previas, se pueden observar los picos de absorción para cada compuesto, estos picos de grupos funcionales son la conformación del nanocompuesto.

A continuación, se muestran los picos de absorción para cada compuesto que conforma la pasta CTZ (Tabla 23). (88,89)

**Tabla 23. Grupos funcionales por compuesto**

Picos de absorción para Cloranfenicol (cm <sup>-1</sup> )	Picos de absorción para Tetraciclina (cm <sup>-1</sup> )	Picos de absorción para óxido de zinc (cm <sup>-1</sup> )
3081	1458	3105
1691	1357	3441
1559	1247-1000	1611
1521	577-501	1555
662	965	1392
1518		1440
3243		1019
		1041
		1117
		950
		946
		693
		624
		620
		465
		568

En los grupos FT1, FT2, FA1 y FA2 no se observan cambios significativos en su estructura, lo que significa que no existe ningún cambio estructural en los componentes del CTZ.

## 2. DISCUSIÓN

A partir de que fue descrita la pasta CTZ en 1959 por Soller y Cappiello, se comenzó su uso, aún sin la información suficiente que evidenciara del todo su eficacia ni su correcto almacenamiento; sólo existe un manual en el que se menciona que la pasta CTZ debe ser almacenada en un frasco ámbar por un periodo de 2 semanas, al parecer por las características en sus componentes al ser fotosensibles, pero carece de evidencias. (90)

Es importante evaluar los efectos sistémicos que produce la pasta CTZ, se han realizado estudios en animales, (Bruno, Costa y cols) en donde se observa que se produce una reacción inflamatoria aguda a los siete días con predominio de células mononucleares, pero, posteriormente a los 30 días desaparece esta reacción inflamatoria sugiriendo que son biológicamente aceptables al entrar en contacto con el tejido conectivo y favorecer la reparación, por lo que se puede argumentar que resulta biocompatible con el tejido vivo; sin embargo, aún se necesita indagar en ésta área de oportunidad pues aunque es prometedor, es necesario demostrar una total aceptación del compuesto de manera sistémica en humanos. (25,81)

En el presente estudio se utilizaron cepas con diferencia biológica, se emplearon durante todo el estudio *P. aeruginosa*, *E. aureus*, *E. faecalis* y *E. coli*; pertenecientes a la microbiota residente de la cavidad oral y en diagnósticos de enfermedad pulpar y perirradicular. (72,73,76,77)

La Asociación Americana de Odontopediatría (2021) señala que el tratamiento de pulpectomía convencional puede ocasionar defectos en el esmalte del diente sucesor dependiendo de la edad del paciente, la reabsorción radicular preoperatoria y el traumatismo; así como la LSTR (Esterilización de la lesión y reparación de los tejidos) se asocia a pérdida de hueso interradicular alrededor de la corona del sucesor permanente, al ser porcentajes relativamente bajos en ambos casos, refiere

la utilización de la técnica LSTR con pastas antibióticas siempre y cuando exista una reabsorción de las raíces del diente a tratar.(40)

En éste estudio se observó que la forma de almacenamiento no influye en las características antibacterianas, tampoco el tiempo de almacenamiento demostró un aumento o disminución significativo de sus propiedades lo que muestra una efectividad antibacteriana consistente del compuesto CTZ.

Se puede observar una diferencia con respecto a los demás valores en la semana 24 en el grupo ámbar, y en la semana 26, 28 también del grupo ámbar en las gráficas de los análisis de comparación de Dunnett y Sidak; esto se relaciona con un defecto durante la manipulación o realización del experimento, a pesar de esto, no es algo significativo pues el compuesto se muestra consistente en los resultados de las otras semanas.

La hipótesis planteada en el presente estudio fue refutada ya que se esperaba una disminución del efecto antibacteriano del CTZ cuando la elección de almacenamiento era un frasco de vidrio transparente y es evaluado a las 28 semanas de almacenado, debido a que no se encontró una disminución del efecto antibacteriano desde la semana inicial (semana veinte) de evaluación del compuesto CTZ ni a la última semana de evaluación(semana veintiocho) , así como tampoco hubo evidencia de una diferencia realmente importante al que fuera realmente significativa en la comparación entre microorganismos y entre un almacenamiento en un frasco de cristal ámbar o en uno transparente.



### 3. CONCLUSIÓN

A la fecha, el uso de la pasta CTZ se ha ido popularizando y se han realizado múltiples estudios sobre todo de su efectividad clínica pues, a pesar de no contar con suficiente bibliografía que nos aborde el tema acerca de su efectividad antimicrobiana, efecto sistémico y manipulación adecuada, la literatura clínica que se encuentra, nos refiere resultados clínicos óptimos, sin remisión de la infección o sintomatología y si a esto se añaden las ventajas tanto como para el paciente como para el profesional, hace que el odontólogo desee utilizarla en la consulta privada.

En este estudio se llegó a la conclusión de que el efecto antibacteriano de la pasta CTZ ha tenido resultados consistentes ya que no se observó una disminución importante en su efectividad aún a las 28 semanas de evaluación *in vitro*, así como en el estudio de espectroscopia de infrarrojo no se observó ninguna alteración en el compuesto. Lo que quiere decir que permaneció igual sin importar el tiempo que permaneció almacenado y además se demostró que no existe ninguna diferencia al ser almacenado en un frasco de cristal ámbar o en uno transparente ya que en cualquiera de los dos se obtiene la misma efectividad antibacteriana; lo que quiere decir que tanto el tiempo como las condiciones de almacenamiento son factores que no tienen relevancia en manera que afecten las propiedades antibacterianas del compuesto CTZ ni su funcionalidad, al menos hasta las 28 semanas de estudiado.

Y, aunque aún existan variables a considerar tales como su efecto sistémico, la resistencia bacteriana ante cepas distintas o su citotoxicidad, para poder utilizar el compuesto CTZ de forma habitual, este es un registro más de su efectividad antimicrobiana y demuestra que es una adecuada elección como material para realizar tratamientos pulpares mediante la técnica de no instrumentación en dentición primaria.

## 4. BIBLIOGRAFÍA

1. Albuquerque, I., Marinho, J., Vasconcelos, P. (2008). Utilizacao da pasta CTZ em dente decíduo com necrose pulpar-relato de caso. *Odont Clin Cientif Recife*, 7, 63-55.
2. Coll, J., Sadrian, R. (1996). Predicting pulpectomy success and its relationship to exfoliation and succedaneous dentition. *Ped Dent*, 18(1), 57-62.
3. González, D., Trejo, P., De León, C., Carmona, D. (2010). Técnica de endodoncia no instrumentada mediante el uso de la pasta CTZ. *Rev. Estomat. Salud*, 18(2), 27-32.
4. Stanley M, Garn., Artur, B., Lewis and Rose S, Kerewsky. (1965). Genetic, nutritional and maturational correlates of dental *development*. *J. Dent. Res.*, 44,228. <https://doi:10.1177/00220345650440011901>.
5. Falkner, F. (1957). Deciduous tooth eruption. *Arch. Dis. Child*, 32(165), 386-91. <https://doi:10.1136/adc.32.165.386>.
6. Nelson, S. (2006). *Wheeler's Dental Anatomy, Physiology and Occlusion*. Editorial Elsevier.
7. Ribeiro, N., Ramos, L., Peixoto, S. (2011). Saúde bucal em crianças na idade escolar em Nova Xavantina-MT. *Revista eletrônica Univar*, 6, 12-6.
8. Alencar., Catarina, R., Alessandro, B., Priscilla, M. Perda precoce de dentes decíduos: etiologia, epidemiologia e consequências ortodônticas. (2007). *Publ UEPG Ci Biol Saúde*, 13(1/2) ,29-37.
9. Sajeev, K., Robert, M. (1979). Endodontic Treatment in the Primary Dentition. *Australian Endodontic Journal*, 30(2), 59-68. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2004.tb00183.x>.
10. Schour, I., Massler, M. (1940). Studies in tooth development: The growth pattern of human teeth, part II. *J. Am. Dent. Assoc*, 27, 1918.
11. Cañon, O., Torres, E. (2010). Desarrollo de la Dentición. Guías clínicas para el manejo odontológico el Paciente Pediátrico. Universidad Santo Tomás.p.295-300.

12. Clements, E.M.B., Davies, E., Pickett, G. (1957). Age at which deciduous teeth are shed. *Brit.Med. J*, 1(5034), 1508. <https://doi:10.1136/bmj.1.5034.1508>.
13. Hoshino, E., Kurihara-Ando, N., Sato, I., Uematsu, H., Sato, M., Kota, A., Iwaku, M. (1996). In vitro antimicrobial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *J. Int.Endod*, 29(2), 125-130. <https://doi:10.1111/j.1365-2591.1996.tb01173.x>.
14. Quispe, A. (2007) Evaluación del efecto antibacteriano de drogas 3Mix en bacterias anaerobias prevalentes en necrosis pulpar. [Tesis para obtener el Título de Cirujano dentista]. UNMSM.
15. Tanumihardja, M., Wahyuni, S., Pattelongi, I., Samad, R., Wahid, S. (2015). Antimicrobial Effects of Triantibiotic Paste in Endodontic Treatment of Chronic Apical Periodontitis. *Scholars Journal of Dental Sciences*, 2(1): 58-62.
16. Levin, L., Law, A., Holland, G., Abbott, P., Roda, R. (2009). Identify and Define All Diagnostic Terms for Pulpal Health and Disease States. *Journal of Endodontics*, 35(12), 1645-1657. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.032>.
17. Mendiburu, CE., Arce, DJ., Medina, S., Carrillo, J. (2016). Prevalencia de enfermedades pulpares o periapicales como factores de riesgo de la uveítis secundaria. *Rev Odontol Mexicana*, 20(1), 22-8. <https://doi:10.1016/j.rodMex.2016.02.003>.
18. Tanumihardja, M., Wahyuni, S., Pattelongi, I., Samad, R., Wahid, S. (2015). Antimicrobial Effects of Triantibiotic Paste in Endodontic Treatment of Chronic Apical Periodontitis. *Scholars Journal of Dental Sciences*, 2(1): 58-62.
19. Mass, E., Zilberman, U. (1989). Endodontic treatment of infected primary teeth using Maisto's paste. *J Dent Child*, 56(2), 117-20.
20. Grewal, N., Sharma, N., Chawla, S. (2018). Comparison of resorption rate of primary teeth treated with alternative lesion sterilization and tissue repair and conventional endodontic treatment: An in vivo randomized clinical trial. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 36(3), 262-7.
21. Kakehashi, S., Stanley, H., Fitzgerald, R. (1965). The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral*

- Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology, 20(3), 340–9.  
[https://doi:10.1016/0030-4220\(65\)90166-0](https://doi:10.1016/0030-4220(65)90166-0).
22. Moller, A., Fabricius, L., Dahlen, G., Sundqvist, G., Happonen, R. (2004). Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. *European Journal of Oral Sciences* ,112, 207–15.  
<https://doi:10.1111/j.1600-0722.2004.00135.x>.
  23. Heredia, C., Acosta, J., Flores, M., Gonzales, B., Melgar, R., Yamato, F. (1994). *Manual de procedimientos clínicos*.
  24. Cohen, S., Hargreaves, M., Kennet. (2002). *Pathways of the pulp*. Editorial Mosby Elsevier, 8,440.
  25. Guenzler, H., Gremlich, H. (2002). *IR Spectroscopy an introduction*, 34(15),374.
  26. De Lorenzo, L. (2004). *Microbiología para estudiantes de Odontología*. Editorial Ateneo.
  27. Wang, G., Wang, C., Qin, M. (2017). Pulp prognosis following conservative pulp treatment in teeth with complicated crown fractures-A retrospective study. *Dent Traumatol*,33(4),255-260. <https://doi:10.1111/edt.12332>.
  28. Simancas, M., Díaz, A., Luna, R. (2010). Mineral trioxide aggregate in primary teeth pulpotomy. A systematic literature review. *Med Oral Patol.Oral Cir Bucal*,15(6),942-6. <https://doi:10.4317/medoral.15.e942>.
  29. Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Editorial John Wiley & Sons.
  30. Bruno, G. B.; Menezes, V., Bruno, J., Almeida, M., Viana, G. (2006). Avaliação hematológicas e bioquímicas do sangue de cães submetidas a pulpotomias com cimento de antibiótico. *Rev. Odontol. U. N. E. S. P.*, 35(3),125-33.
  31. Bruno, B., Menezes, A., Bruno, A., Almeida, W., Viana, B. (2006). Avaliação hematológicas e bioquímicas do sangue de cães submetidas a pulpotomias com cimento de antibiótico. *Rev. Odontol. U. N. E. S. P.*, 35(3) ,125-33.

32. Lo, EC., Holmgren, CJ., Hu, D., Van, W. (2007). Six-year follow up of atraumatic restorative treatment restorations placed in Chinese school children. *Community Dent Oral Epidemiol*, 35(5), 387-92. <https://doi:10.1111/j.1600-0528.2006.00342.x>.
33. Yin-Lin, Wang., Hsiao-Hua, Chang., Ching-I, Kuo., Ssu-Kuang, Chen., Ming-Kuang, Guo., Guay-Fen, Huang., Chun-Pin, Lin. (2013). A study on the root canal morphology of primary molars by high-resolution computed tomography. *Journal of dental Sciences*, 8(3), 321-327.
34. Salama, F., Anderson, R., McKnight, C., Barenie, J., Myers, D. (1992). Anatomy of primary incisor and molar root Canals, Short communication. *Ped Dent*, 14(2), 117-18.
35. Antoniazzi, B., Pires, C., Bresolin, C., Weiss, R., Praetzel, J. (2015). Antimicrobial activity of different filling pastes for deciduous tooth treatment. *Pediatric Dentistry*, 29(1), 1-6. <https://doi:10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0005>.
36. Iwaya, S., Ikawa, M., Kubota M. (2001). Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dental Traumatology*, 17(4), 185-7. <https://doi:10.1034/j.1600-9657.2001.017004185.x>.
37. Rabinowitch, B. (1953). Pulp management in primary teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 6, 542-50,671-6.
38. Bonatto, B. (2013). Conocimiento de los profesores y estudiantes acerca de las diferentes técnicas para la obturación de conductos radiculares en piezas primarias en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala y el análisis de la técnica de obturación con léntulo y óxido de zinc y eugenol (OZE). Para la obturación de dichos conductos. Universidad de San Carlos de Guatemala. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/id/eprint/4732>.
39. Takushigue, T., Cruz, E., Moral, A., Hoshino, E. (2004). Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. *J Int Endod*, 37(2), 132-138. <https://doi:10.1111/j.0143-2885.2004.00771.x>.
40. American Academy of Pediatric Dentistry. Pulp therapy for primary and immature permanent teeth. (2021). *The Reference Manual of Pediatric*

Dentistry,399-407.

[https://www.aapd.org/media/Policies\\_Guidelines/BP\\_PulpTherapy.pdf](https://www.aapd.org/media/Policies_Guidelines/BP_PulpTherapy.pdf).

41. Hoshino, E., Sterilization of carious lesions by drugs. (1990). J of the Japanese Association for Dental Science,9, 32-37.
42. Young, G., Parashos, P., Messer, H. (2007). The principles of techniques for cleaning root canal. Journal Australian Dental, 52(1), 52-63.  
<https://doi:10.1111/j.1834-7819.2007.tb00526.x>.
43. De Barros, B., Nunes, A., Aparecida, M., Germano, M., Bruno, J. (2007). Biocompatibility evaluation of an antibiotic paste after pulpotomy in dogs. Braz J Oral Sci, 6(22),1397-401.<https://doi:10.20396/bjos.v6i22.8642999>.
44. Amorim, L., Toledo, O., Estrela, C., Decurcio, D., Estrela, C. (2006). Antimicrobial Analysis of Different Root Canal Filling Pastes Used in Pediatric Dentistry by Two Experimental Methods. Brazil Journal Dental, 17(4), 317-322. <https://doi:10.1590/S0103-64402006000400010>.
45. Denari, W. (1996). É possível tratar dentes decíduos com fístula sem instrumentação dos condutos? Revista da APCD, 50(2), 186-7.
46. Sato, T., Hoshino, E., Uematsu, H., Noda, T. (1993). In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs of bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. Oral Microbiology & Immunology, 8(3),172-76. <https://doi:10.1111/j.1399-302x.1993.tb00661.x>.
47. Castillo, R., Perona, G., Kanashiro, C., Perea, M., Silva, F. (2010). ESTOMATOLOGÍA PEDIÁTRICA. Editorial RIPANO, 174-191.
48. Roth. (2017). Tetraciclina [Ficha de datos de seguridad]. Bioquímica y biología molecular. <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/>.
49. Tetraciclinas. (2002). Universidad Nacional de Colombia. <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/52410/lecciones/Tetraciclinas.html>.
50. Calixto, K., Correa, E., Anchelia, S. (2014). Efectividad clínica y radiográfica de dos pastas antibióticas empleadas en necrosis pulpar en niños de un Hospital Nacional del Perú. KIRU, 11(2),115–22.
51. Sigma-aldrich. (2022). Chloramphenicol [ Product Specification]. Sigma-aldrich. <https://www.sigmaaldrich.com/specification-sheets/186/543/C0378>.

52. Neuman, M. (1989). Antibacterici Antimicotici e Antivirali. Sicurezza e Tollerabilità. Editorial Raffaello Cortina, 132.
53. Technew. (2019). Cemento temporal proclínico sin eugenol (Ficha de datos de seguridad). Technew comercio e industria Inc. [https://www.proclinic.es/tienda/media/fichas\\_tecnicas/35215\\_35217\\_msds\\_es.pdf](https://www.proclinic.es/tienda/media/fichas_tecnicas/35215_35217_msds_es.pdf).
54. Eufar. (2011). Eugenol [Ficha técnica de aseguramiento de calidad]. Laboratorios Eufar, S.A. [https://cdn1.totalcode.net/newstetic/docs/463\\_92880\\_39460\\_002.pdf](https://cdn1.totalcode.net/newstetic/docs/463_92880_39460_002.pdf).
55. De la Cruz, S. (2017). Manejo de terapia pulpar, pulpotomía, pulpectomía, apicoformación. Univ Inca Garcilaso la Vega. <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/1507#>. XVT3 UnmuUKM.mendeley.
56. Siegl, R., Lenzi, T., Politano, G., Benedetto, M., Imperato, J., Pinheiro, S. (2015). Two endodontics techniques analysis in primary molars with fistula. Rev Gaúch Odontol, 63(2),187-94. <https://doi:10.1590/1981-863720150002000082990>.
57. Cruz, E., Kota, K., Huque, J., Iwaku, M., Hoshino, E. (2002). Penetration of Propylene glycol into dentine. International Endodontic Journal, 34(4), 330-2.
58. Yanko, N., Khmil, O., Kaskova, L., Vashchenko, I. (2016). Advanced endodontic developments in pulpectomy of primary teeth. Wiad Lek,69(2 pt. 2), 223-227.
59. Lokade, A., Thakur, S., Singhal, P., Chauhan, D., Jayam, C. (2019). Comparative evaluation of clinical and radiographic success of three different lesion sterilization and tissue repair techniques as treatment options in primary molars requiring pulpectomy: An *in vivo* study. J Indian Soc Pedod Prev Dent, 37(2),185-191. [doi: 10.4103/JISPPD.JISPPD\\_6\\_19](https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_6_19).
60. Moura, J., Lima, M., Nogueira, N., Castro, M., Lima, C., Moura, M., Moura, L. (2021). LSTR Antibiotic Paste Versus Zinc Oxide and Eugenol Pulpectomy for the Treatment of Primary Molars with Pulp Necrosis: A Randomized Controlled Trial. Pediatr Dent, 43(6),435-442. [PMID: 34937613](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34937613/).

61. Moura, D., Lima, M., Lima, C., Machado, J., Moura, M., Carvalho, P. (2016). Endodontic Treatment of Primary Molars with Antibiotic Paste: A Report of 38 Cases. *J Clin Pediatr Dent*, 40(3),175-7. [doi: 10.17796/1053-4628-40.3.175](https://doi.org/10.17796/1053-4628-40.3.175).
62. Luengo, J., Ayala, S., Carlos, L., Toscano, I., Anaya, M. (2019). Clinical and Radiographic Evaluation of Formocresol and Chloramphenicol, Tetracycline and Zinc Oxide-Eugenol Antibiotic Paste in Primary Teeth Pulpotomies: 24 month follow up. *J Clin Pediatr Dent*. 43(1),16-21. [doi: 10.17796/1053-4625-43.1.4](https://doi.org/10.17796/1053-4625-43.1.4).
63. Daghbir, R., Drogui, P. (2013). Tetracycline antibiotics in the environment: a review. *Environ Chem Lett*. 11, 209–227. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0404-8>.
64. Lacativa, A., Loyola, A., Sousa, C. (2012). Histological Evaluation of Bone Response to Pediatric Endodontic Pastes: An Experimental Study in Guinea Pig. *Brazil Journal Dental*, 23(6), 635-644. [https://doi:10.1590/s0103-64402012000600003](https://doi.org/10.1590/s0103-64402012000600003).
65. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2004). Method for Antifungal Disk Diffusion; Approved guideline. NCCLS document M44-A (ISBN 1- 56238 -532-1). Wayne, Pennsylvania.
66. Cercenado, E., Saavedra, J. (2009). El antibiograma. Interpretación dl antibiograma: conceptos generales(I). Elsevier. 7(4),214-217. [https://doi.org/ 10.1016/S1696-2818\(09\)71927-4](https://doi.org/10.1016/S1696-2818(09)71927-4).
67. Guenzler, H., Gremlich, H. (2002). Instrumentation related to nuclear science and technology. 374p. [ISBN 3-527-28896-1](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02175-8).
68. Mueller Hinton agar. (2011). Acumedia Manufacturers, PI 7101 Rev 3.
69. Mattos, G., Gomez, E., Chain, M., Santos, A., Tramonte, R., Rodrigues, R. (2008). Biological compability of the endodontic paste prepared with tetraciline, thiamphenicol and zinc oxide implanted on the subcutaneous tissue of rats.int. *J. Odontostomat*, 2(1), 7-16.
70. Hiramatsu, K., Cui, L., Kuorda, M., Ito, T. (2001). The emergence and evolution of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, 9(10), 486-493. [https://doi:10.1016/S0966-842X\(01\)02175-8](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02175-8).
71. Moreillon, P., Que, Y., Glauser, M. (2005). *Staphylococcus aureus*. Principles and practice of infectious diseases. In Mandell GL, Bennett JE, Olin R.,6.



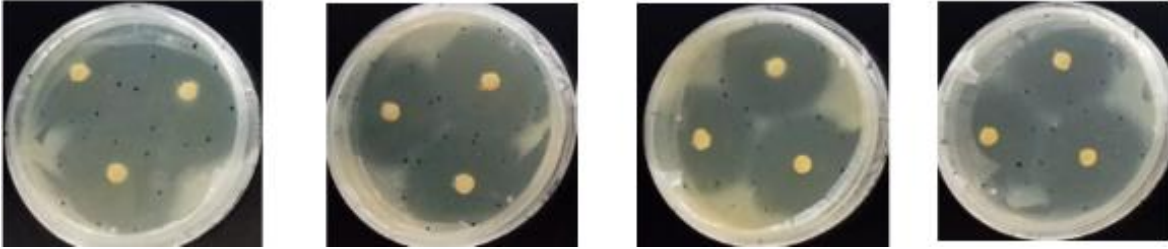
72. Kaper, J., Nataro, J., Mobley, H. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, 2(2),123– 40.
73. Sweeney, N., Kiem, P., McCormick, B., Nielen, E., Utley, U., Schembri, M., Laux, D. (1996). The *Escherichia coli* K-12 *gntP* gene allows *E. coli* F-18 to occupy a distinct nutritional niche in the streptomycin-treated mouse large intestine. *Infect Immun*, 64, 3497–503.
74. Daniluk, T., Fiedoruk, K., Sciepek, M., Zaremba, M., Rozkiewicz, D., Cylwik, D., Tokajuk, D., Kedra, B., Anielska, I., Stokowska, W., Gorska, M., Kedra, B. (2006). Aerobic bacteria in the oral cavity of patients with removable dentures. *Adv Med Sci*, 51,86–90.
75. Garau, J., Gómez, L. (2003). *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Curr Opin Infect Dis*, 16,135-143.
76. McManus, A., Mason, A., Jr, McManus, W., Pruitt, B. (1985). Twenty-five-year review of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in a burn center. *Eur J Clin Microbiol*, 4,219-223.
77. Murray, B., Weinstock, G. (1999). Enterococci: new aspects of an old organism. *Proc. Assoc. Am. Physicians*,111(4),328–334.  
<https://doi:10.1046/j.1525-1381.1999.99241.x>
78. Richards, M., Edwards, J., Culver, D., Gaynes, R. (2000). Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*, 21(8),510–515.  
<https://doi:10.1086/501795>.
79. Coates, J. (2006). The Interpretation of Infrared Spectra: Published Reference Sources, 31(1-2), 179-192.<https://doi:10.1080/05704929608000568>.
80. Gonçalves, S. (2010). Análise da atividade antimicrobiana de quatro pastas endodônticas sobre microorganismos removidos da cavidade pulpar de molares decíduos necrosados. Universidade do Grande Rio.  
[http://www2.unigranrio.br/unidadesadm/proreitorias/propep/strictosensu.old/cursos/mestrado/ppg\\_odontologia/galleries/download/DissertacaoSandro-Seabra-Goncalves.pdf](http://www2.unigranrio.br/unidadesadm/proreitorias/propep/strictosensu.old/cursos/mestrado/ppg_odontologia/galleries/download/DissertacaoSandro-Seabra-Goncalves.pdf).
81. Walther, L. (1965). Endodontic treatment for primary molars. *Rev Gaucha Odontol*, 13(1), 8-11.

82. Silva, L., Nelson, P., Faria, G., De Souza, M., Ito, I. (2006). Bacterial profile in primary teeth with necrotic pulp and periapical lesions. *Brazilian Dental Journal*, 17(2), 144–8.
83. García, B. (2000). *Patología y terapéutica dental*. Editorial Síntesis, 240-241.
84. Pérez, P., Curioca, R., Ugalde, R. (2012). Efectividad terapéutica de la pasta CTZ vs. Biomecánica convencional en pulpa necrótica de escolares de 4-8 años. *Odonto Pediatr*, 2(3), 28-36.
85. Poner fin a la caries dental en la infancia: manual de aplicación de la OMS [Ending childhood dental caries: WHO implementation manual]. (2021). Organización Mundial de la Salud. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/340445>.
86. REAL ACADEMIA ESPAÑOLA: Diccionario de la lengua española, 23.<sup>a</sup> ed., [versión 23.5 en línea]. <https://dle.rae.es/tiempo>.
87. REAL ACADEMIA ESPAÑOLA: Diccionario de la lengua española, 23.<sup>a</sup> ed., [versión 23.5 en línea]. <https://dle.rae.es/condici%C3%B3n#ABisSB6>.
88. Mahalakshmi, S., Hema, N., Vijaya, P. (2020). In Vitro Biocompatibility and Antimicrobial activities of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) Prepared by Chemical and Green Synthetic Route. A Comparative Study. *BioNanoScience*, 10, 112-121. <https://doi.org/10.1007/s12668-019-00698-w>.
89. Mahendra, K., Shrikand, P., Harish, S., Khemraj, B., Snehasis, J. (2015). Spectroscopic Characterization of Chloramphenicol and Tetracycline: An Impact of Biofield Treatment. *Pharmaceutica Analytica Acta*. 6(7). [https://doi: 10.4172/2153-2435.1000395](https://doi:10.4172/2153-2435.1000395).
90. Sherman, J. (1937). The streptococci. *Bacteriol Rev*, 1(1), 3–97. <https://doi:10.1128/br.1.1.3-97.1937>.

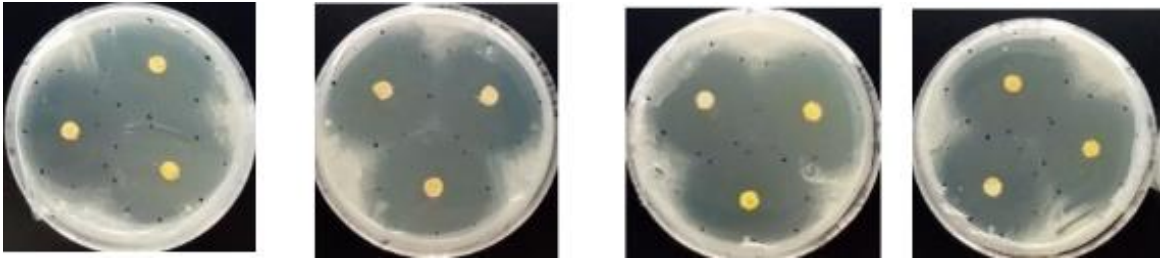
## ANEXOS

ANEXO 1. Zonas de inhibición de la semana 20 (Inicial) a) *S. aureus*, b) *E. faecalis*, c) *E. coli*, d) *P. aeruginosa*. Grupo A1, A2, T1 y T2 de izquierda a derecha respectivamente

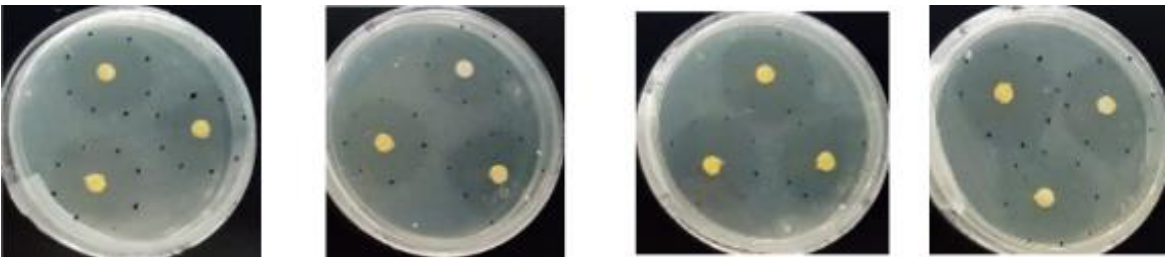
a)



b)



c)

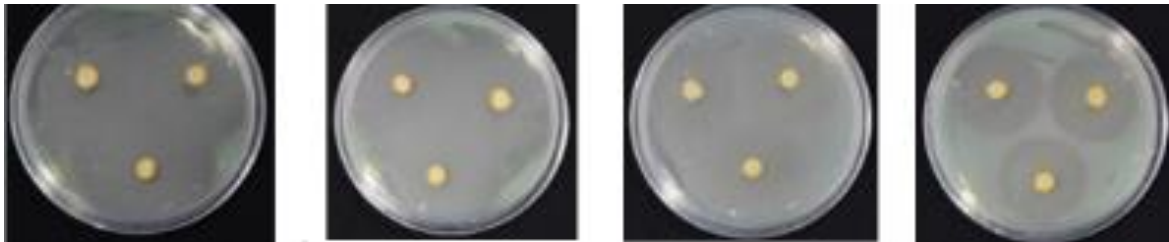


d)

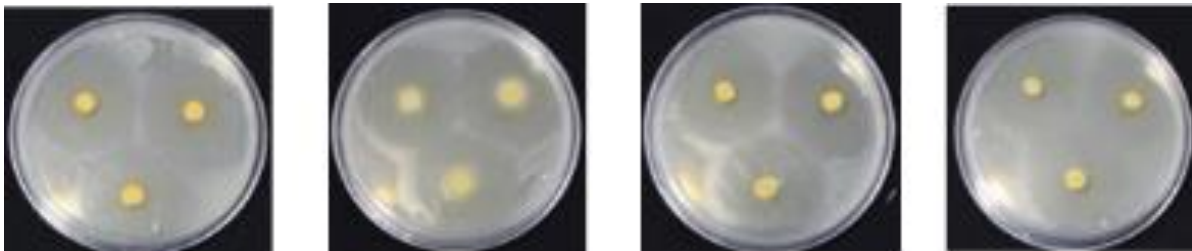


**ANEXO 2. Zonas de inhibición de la semana 22 a) *S. aureus*, b) *E. faecalis*, c) *E. coli*, d) *P. aeruginosa*. Grupo A1, A2, T1 y T2 de izquierda a derecha respectivamente**

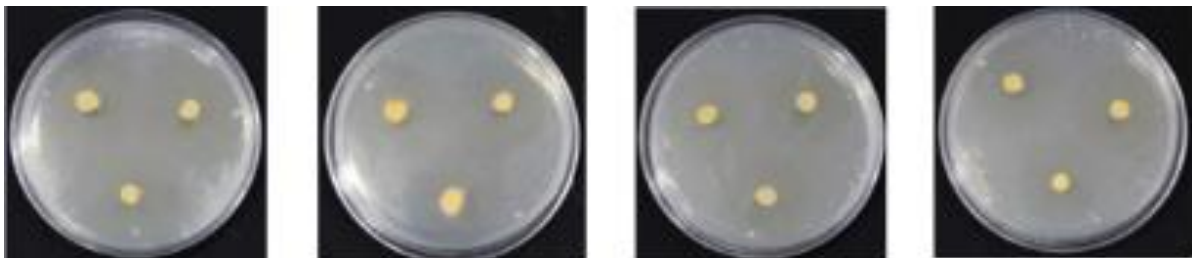
a)



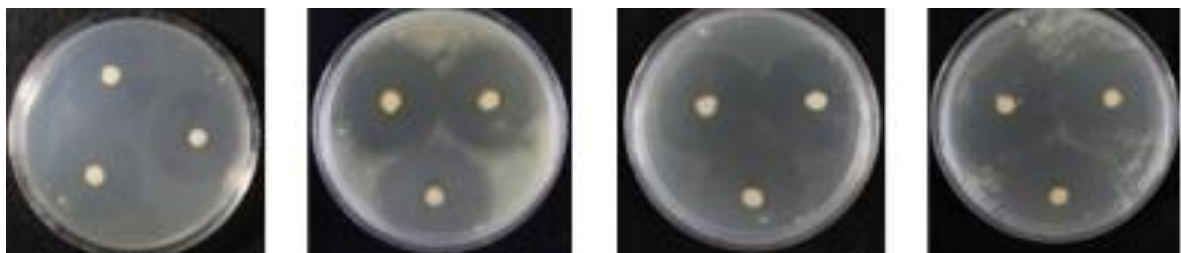
b)



c)

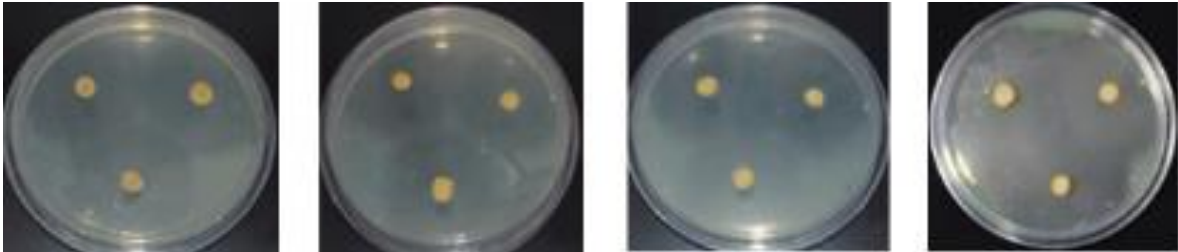


d)

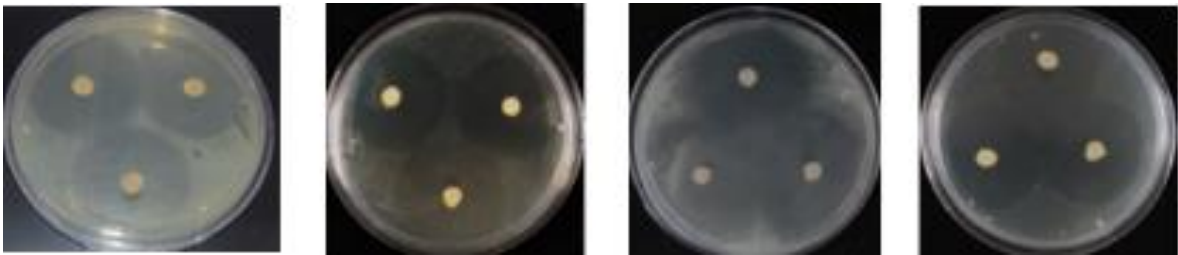


**ANEXO 3. Zonas de inhibición de la semana 24 a) *S. aureus*, b) *E. faecalis*, c) *E. coli*, d) *P. aeruginosa*. Grupo A1, A2, T1 y T2 de izquierda a derecha respectivamente**

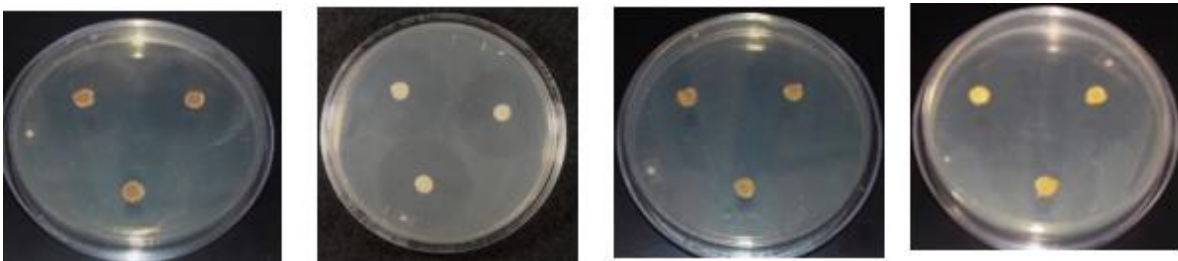
a)



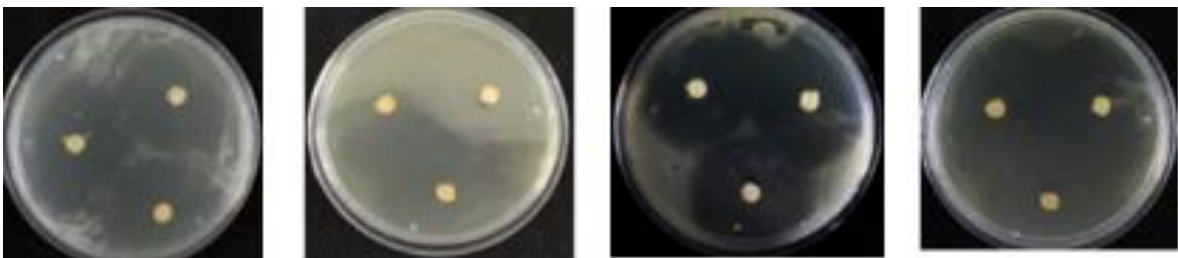
b)



c)



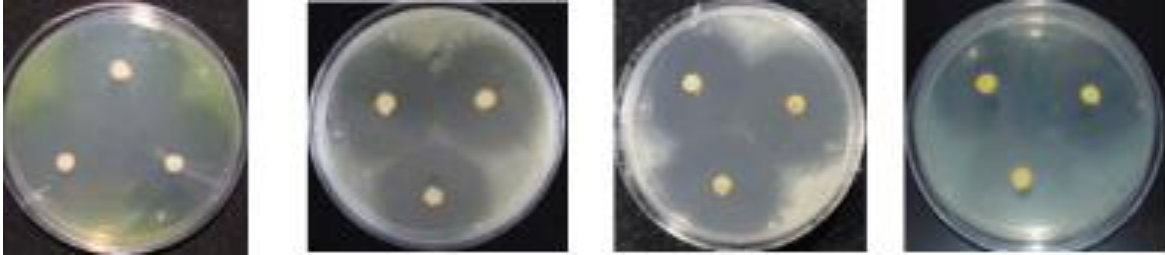
d)



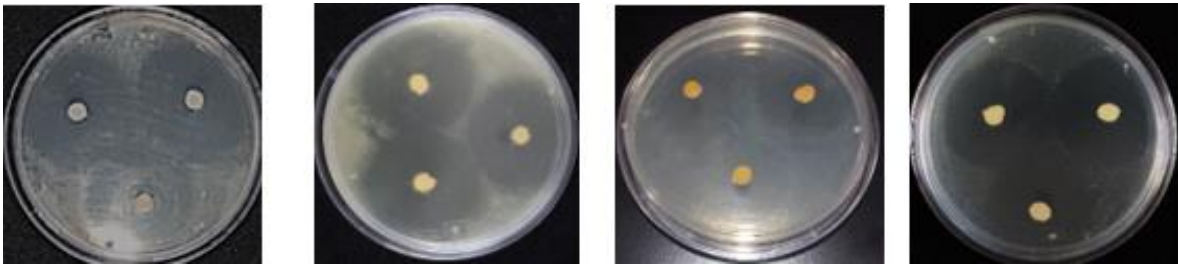


**ANEXO 4. Zonas de inhibición de la semana 24. a) *S. aureus*, b) *E. faecalis*, c) *E. coli*, d) *P. aeruginosa*. Grupo A1, A2, T1 y T2 de izquierda a derecha respectivamente**

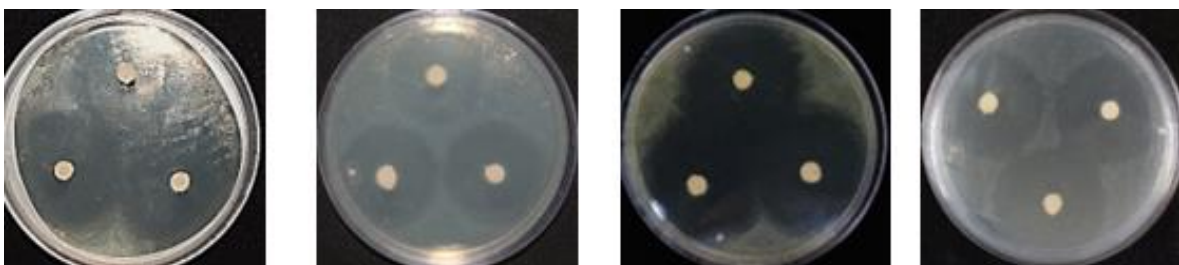
a)



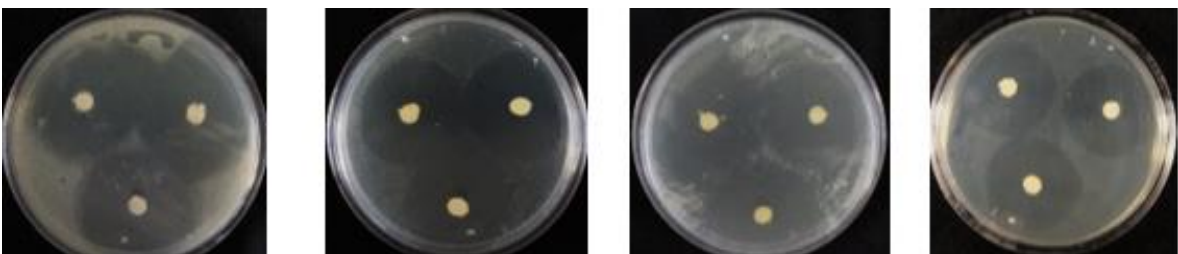
b)



c)

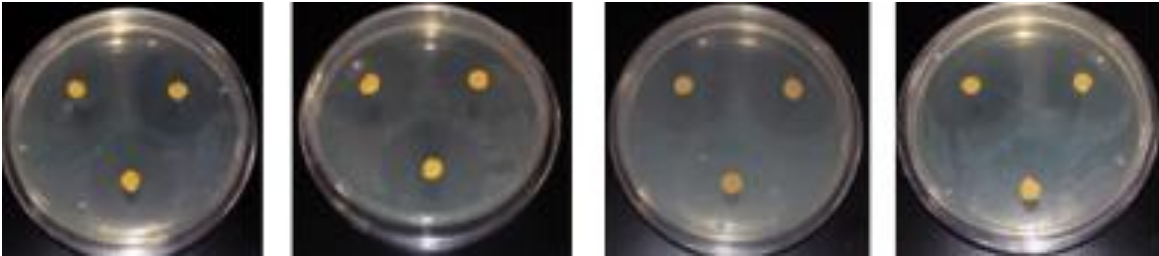


d)

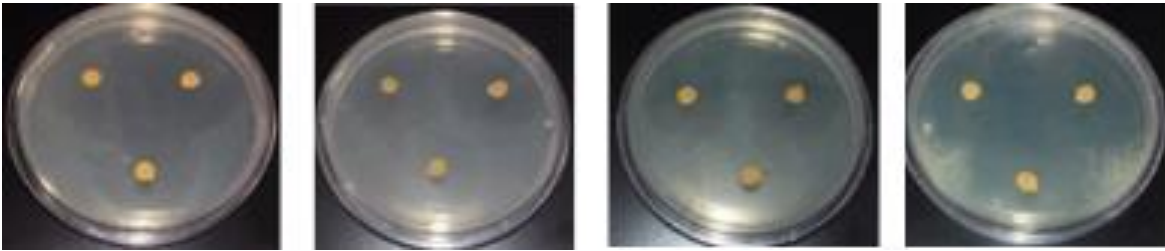


**ANEXO 5. Zonas de inhibición de la semana 28. a) *S. aureus*, b) *E. faecalis*, c) *E. coli*, d) *P. aeruginosa*. Grupo A1, A2, T1 y T2 de izquierda a derecha respectivamente**

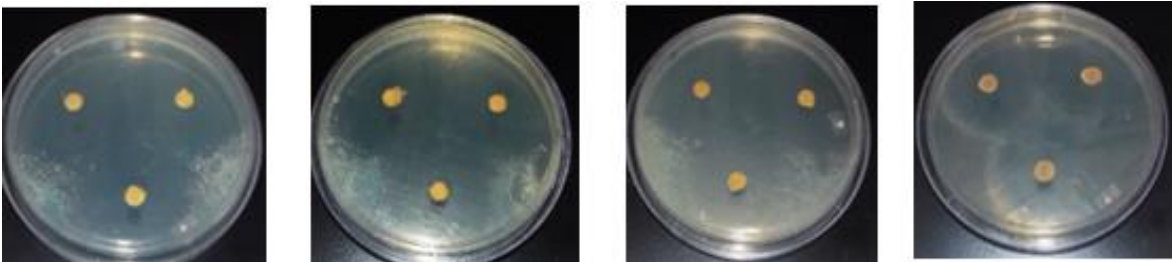
a)



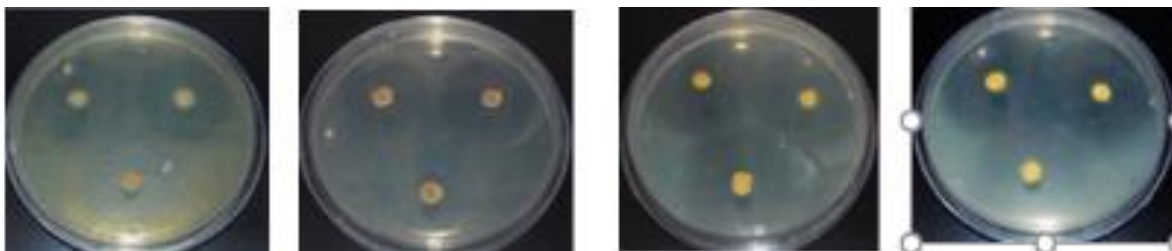
b)



c)



d)



**ANEXO 6. Registro de las zonas de inhibición de la semana 20(inicial)**

FRASCO ÁMBAR				
	<i>S.aureus</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>
DISCO 1	38.41	29.93	34.25	31.18
	35.58	31.52	38.55	31.02
	37.43	31.51	29.79	29.91
	40.39	31.21	37.54	31.02
	45.01	34.00	38.11	33.13
	38.45	35.34	35.83	30.37
	37.25	31.74	32.49	31.58
	44.95	32.97	38.30	32.49
DISCO 2	40.71	28.12	36.28	30.79
	34.93	31.76	36.45	29.62
	35.46	27.91	36.97	30.17
	37.26	31.3	31.88	29.28
	40.88	33.17	41.72	32.24
	35.10	32.61	35.49	30.39
	40.41	32.03	39.59	32.05
	36.73	31.00	35.13	30.94
DISCO 3	26.33	29.47	30.49	33.5
	43.94	31.03	38.11	34.40
	35.27	30.17	39.19	31.95
	40.06	31.25	34.75	32.35
	31.24	34.87	35.93	29.41
	40.32	32.91	36.39	46.13
	36.13	34.75	37.83	28.2
	34.48	34.39	36.91	28.29
Promedio	37.78	31.87	36.16	31.68

FRASCO TRANSPARENTE					
	<i>S.aureus</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	
DISCO 1	40.92	28.86	39.41	30.24	
	35.35	29.09	37.03	29.25	
	35.96	28.29	36.70	27.45	
	39.28	29.88	38.66	26.46	
	40.07	32.39	39.70	29.99	
	38.18	32.54	35.32	31.37	
	38.55	29.00	35.24	28.67	
	38.17	32.90	37.82	27.79	
	DISCO 2	37.48	28.28	43.24	30.28
		38.25	29.21	37.45	32.07
41.70		29.85	41.82	29.32	
37.14		28.17	40.64	32.61	
37.92		31.21	37.02	33.98	
36.21		32.41	32.47	31.98	
45.98		30.01	39.23	31.80	
38.17		29.36	37.15	33.08	
DISCO 3	36.12	28.18	33.68	29.21	
	39.42	29.77	37.80	32.70	
	39.39	33.68	33.66	29.40	
	35.61	31.20	34.28	30.41	
	31.32	31.82	36.33	26.55	
	46.31	32.03	37.77	37.44	
	39.00	32.04	36.84	31.44	
	37.94	31.90	37.02	32.07	
Promedio	38.51	30.50	37.34	30.64	



## ANEXO 7. Registro de las zonas de inhibición de la semana 22

FRASCO ÁMBAR				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
DISCO 1	42.59	32.66	41.81	31.26
	37.22	33.30	37.75	32.09
	45.32	32.95	40.66	32.15
	43.82	33.38	47.79	32.69
	49.28	33.16	41.28	32.20
	39.70	31.76	39.07	32.23
	37.34	31.56	36.73	32.86
	44.07	30.96	40.27	32.11
DISCO 2	39.63	30.68	40.34	31.91
	35.67	32.26	37.85	30.60
	41.59	32.60	42.23	32.34
	37.69	33.91	36.25	30.83
	41.65	31.05	40.30	33.66
	39.85	34.42	34.47	33.61
	38.3	33.03	42.60	33.41
	38.51	32.84	34.78	33.67
DISCO 3	28.32	31.49	37.69	30.03
	36.78	33.62	40.96	36.67
	35.47	31.89	39.00	34.50
	33.57	30.68	38.46	31.65
	33.39	32.78	37.88	32.90
	39.69	34.79	41.57	33.86
	37.60	32.28	39.63	31.51
	35.82	33.39	39.76	32.30
Promedio	38.86	32.56	39.67	32.54

FRASCO TRANSPARENTE				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
DISCO 1	39.66	30.90	37.71	33.51
	33.78	33.30	31.53	32.36
	35.36	31.06	31.19	33.85
	37.54	30.93	39.78	34.00
	38.93	36.71	39.52	34.81
	36.65	31.98	36.08	34.75
	36.95	31.36	35.52	36.12
	39.13	34.80	38.20	33.32
DISCO 2	41.08	32.81	42.26	32.48
	37.21	32.60	41.46	32.85
	40.55	29.92	39.51	30.81
	34.99	31.77	40.25	33.36
	43.76	34.24	41.48	30.47
	33.76	34.10	37.22	30.96
	41.49	34.12	41.93	29.16
	36.83	34.36	35.58	30.70
DISCO 3	33.92	30.03	34.22	32.93
	42.83	31.05	40.35	35.09
	37.47	30.76	35.89	32.93
	34.98	28.56	32.79	32.06
	35.23	33.78	36.39	33.22
	37.00	33.67	42.57	33.10
	36.59	33.37	39.25	33.24
	34.78	31.51	37.58	31.92
Promedio	37.51	32.40	37.84	32.83

### ANEXO 8. Registro de las zonas de inhibición de la semana 24

FRASCO ÁMBAR				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
DISCO 1	29.82	28.28	39.27	45.72
	30.50	29.19	34.08	40.21
	29.54	28.84	33.97	44.02
	30.38	30.24	39.78	48.83
	43.14	20.67	38.54	30.17
	38.18	21.82	34.66	31.32
	38.05	20.53	37.32	31.41
	44.66	22.73	38.51	36.58
DISCO 2	30.50	32.24	41.15	48.53
	30.28	32.01	38.73	33.78
	30.70	31.40	43.83	51.02
	30.38	30.95	39.63	40.11
	48.07	23.70	36.01	32.49
	33.04	23.85	34.37	31.94
	49.22	25.99	35.53	30.68
	34.86	24.91	33.38	31.16
DISCO 3	30.57	22.39	33.72	34.76
	32.43	28.60	42.10	42.87
	29.74	30.64	39.85	34.13
	29.45	30.55	37.59	36.49
	33.31	29.57	37.23	30.17
	47.51	29.21	39.31	31.90
	37.24	29.01	37.26	30.46
	41.04	33.81	38.37	28.73
Promedio	32.52	27.55	37.67	36.56

FRASCO TRANSPARENTE				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
DISCO 1	44.45	24.34	39.32	33.74
	37.35	24.52	37.57	31.99
	42.07	25.18	38.23	30.20
	45.49	24.09	39.75	31.95
	41.24	37.47	38.55	31.01
	37.29	37.25	37.20	33.24
	36.25	34.88	34.28	32.33
	42.03	34.91	42.27	35.54
	DISCO 2	40.83	29.67	36.60
36.70		30.75	35.06	31.43
43.19		26.76	41.70	29.85
36.48		29.50	37.53	28.46
42.96		35.23	40.11	31.85
34.35		35.06	34.77	33.15
43.42		37.97	41.39	31.77
34.47		33.28	32.81	32.07
DISCO 3		34.25	33.96	31.48
	43.61	26.57	43.48	34.94
	38.48	29.86	36.75	32.81
	36.05	33.14	36.85	33.47
	34.96	35.55	39.57	33.85
	45.16	40.69	41.64	32.41
	38.37	38.45	39.71	35.24
	39.49	38.39	41.83	34.17
Promedio	39.53	32.39	38.27	32.37

### ANEXO 9. Registro de las zonas de inhibición de la semana 26

FRASCO ÁMBAR				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
DISCO 1	31.45	30.66	41.37	34.23
	35.08	30.71	32.24	33.62
	32.51	28.19	34.45	30.60
	36.06	31.34	41.15	33.21
	37.73	30.24	41.86	35.51
	34.77	32.12	37.13	37.64
	34.89	31.58	36.93	36.05
	36.60	32.00	42.23	36.43
DISCO 2	36.83	30.27	39.42	34.05
	37.23	32.18	38.73	34.80
	38.49	31.89	42.20	35.35
	34.45	30.21	35.16	35.46
	39.08	34.36	39.89	36.96
	37.34	31.08	37.16	33.75
	39.69	32.40	39.96	35.21
	32.76	34.93	34.29	34.08
DISCO 3	39.54	32.33	38.49	33.02
	39.94	32.47	44.31	31.40
	40.67	36.59	41.46	32.33
	39.41	33.94	36.13	31.92
	37.02	30.47	35.53	33.88
	38.67	33.00	40.23	32.51
	33.49	33.34	37.63	32.20
	32.64	32.73	36.08	34.25
Promedio	36.51	32.04	38.50	34.10

FRASCO TRANSPARENTE				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
DISCO 1	35.05	25.55	37.19	32.77
	36.04	28.38	33.63	30.14
	36.20	29.39	35.19	32.28
	34.91	30.08	38.42	31.39
	40.40	29.96	39.51	30.18
	35.40	30.93	36.48	30.54
	36.10	31.42	35.15	29.75
	42.63	30.34	38.00	31.47
DISCO 2	40.81	30.87	39.85	31.51
	32.22	32.76	35.68	31.55
	40.42	32.58	39.33	29.84
	33.05	29.34	35.01	32.50
	36.44	31.18	40.72	34.30
	33.92	29.54	35.80	34.46
	38.21	29.79	42.15	34.07
	33.31	31.75	36.79	34.94
DISCO 3	32.23	31.87	34.40	32.55
	40.07	34.30	39.28	33.05
	36.66	33.85	36.30	32.54
	38.63	32.34	37.04	33.29
	32.30	29.93	35.84	32.84
	37.97	32.09	39.18	30.64
	36.82	31.72	37.26	30.83
	34.14	28.70	37.50	33.47
Promedio	36.41	30.78	37.32	32.12

**ANEXO 10. Registro de las zonas de inhibición de la semana 28**

FRASCO ÁMBAR				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
DISCO 1	36.25	30.09	37.98	34.76
	30.28	28.85	37.31	35.19
	33.82	25.53	35.85	34.53
	36.72	29.69	35.75	35.63
	36.74	31.72	36.85	32.11
	32.68	32.43	35.80	30.97
	38.49	30.69	35.64	31.95
	32.90	30.16	37.59	31.75
DISCO 2	35.87	31.50	35.52	31.71
	38.79	31.47	32.25	34.33
	38.21	31.50	32.76	32.54
	34.22	31.76	32.24	32.85
	35.43	32.40	34.57	34.38
	47.57	34.37	35.87	33.24
	33.12	29.99	35.18	33.18
	38.24	32.03	37.97	34.49
DISCO 3	31.23	32.35	36.63	31.08
	31.17	34.26	32.76	35.12
	37.21	33.94	33.83	32.48
	35.54	33.17	33.25	30.00
	33.38	31.27	32.32	32.01
	33.61	32.02	39.04	35.77
	36.28	32.67	38.09	33.62
	34.56	28.62	36.17	31.57
Promedio	35.51	31.35	35.47	33.14

FRASCO TRANSPARENTE				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
DISCO 1	38.03	28.33	38.42	32.35
	37.14	29.21	35.01	31.07
	32.18	28.32	35.75	31.41
	35.35	29.70	35.46	32.08
	34.46	34.45	36.93	30.05
	34.28	32.79	35.85	30.52
	37.28	34.29	36.56	31.35
	36.46	35.62	34.39	28.71
DISCO 2	37.29	27.58	33.57	30.56
	38.26	31.96	39.55	33.68
	35.98	26.24	37.08	30.66
	33.83	29.15	37.25	31.74
	38.64	32.17	36.18	29.26
	35.63	31.14	26.52	30.07
	34.52	27.38	33.09	29.87
	37.69	31.91	40.48	29.55
DISCO 3	31.09	29.82	39.06	28.35
	32.76	28.45	34.64	26.84
	31.69	32.64	37.68	29.47
	33.94	28.81	36.52	28.49
	35.51	27.06	35.49	32.65
	37.94	33.18	39.58	32.33
	36.29	22.62	38.04	32.64
	34.23	28.50	34.65	31.71
Promedio	35.43	30.06	36.16	30.64