

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO BRENES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

SEMINARIO DE GRADUACIÓN

**“Alternativas No Tradicionales para el Control del Biofilme Dental
Sustancias Alternativas con acción antibacteriana para el año 2016”**

Subtema

**“Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de
desinfectantes de cavidades a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y
ciprés (*Cupressus*)”**

Directora:

Dra. Natalia Ballester Barquero

Investigadores Asociados:

Dra. Eugenia Madrigal Gutiérrez

Dra. María del Mar Gamboa Coronado

Dra. Rosaura Romero Chacón

Dr. Norman Rojas Campos

Dr. Rodolfo Zeledón Mayorga

Sustentantes del Seminario

Nombre	Carné
• Jeimy Eduarte Mora	A51955
• Yerilyn Ramírez Ramírez	A75214

San José, Costa Rica
Año 2016



PROGRAMA MACRO DE INVESTIGACIÓN
HOJA DE APROBACIÓN
MEMORIA
SEMINARIO DE GRADUACIÓN

Nombre del Proyecto:

“Alternativas No Tradicionales para el Control del Biofilme Dental. Sustancias Alternativas con acción antibacteriana para el año 2016”.

Subtema:

“Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de desinfectantes de cavidades a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*)”.

Sustentantes:

Fecha: _____

Nombre

Carné

Firma

Jeimy Eduarte Mora

A51955

Jeimy Eduarte Mora

Yerilyn Ramírez Ramírez

A75214

Yerilyn Ramírez Ramírez

Miembros del Tribunal

Nombre:

Firma

Natalia M^a Ballesteros Barquero
Josue Aurelio Knechten
David Acuña M
Layana Vargas
Carlos E Filloy

Natalia M^a Ballesteros Barquero
Josue Aurelio Knechten
David Acuña M
Layana Vargas
Carlos E Filloy

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
Vicerrectoría de Investigación
Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información (SIBDI)

Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de trabajos finales de graduación (TFG) en el acervo digital del Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información de la Universidad de Costa Rica (SIBDI-UCR).

Los abajo firmantes, en su condición de autores del TFG:

AUTORIZAMOS de forma gratuita al SIBDI-UCR, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital del SIBDI-UCR y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser accedido según lo que el SIBDI defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. Los autores del TFG, garantizan al SIBDI-UCR que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su Título, que no infringe ni violenta ningún derecho de terceros.

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

.....

Para uso interno. Número de tesis: _____

Reconocimientos

Un especial agradecimiento a las doctoras Natalia Ballester Barquero y Eugenia Madrigal Gutiérrez por toda su guía, paciencia y apoyo durante el proceso de investigación.

A la Dra. Rosaura Romero Chacón y al personal del CIPRONA por la amabilidad y la atención brindada durante la extracción de las plantas estudiadas.

A la Dra. María del Mar Gamboa Coronado por toda su disposición y colaboración, y a la Sección de Bacteriología Médica de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica por la realización de las pruebas *in vitro*.


San José, 24 de noviembre 2016

A quien interese

He leído, revisado y corregido los aspectos referentes a la estructura gramatical, ortografía, puntuación, redacción y vicios del lenguaje del Trabajo Final de Graduación para optar por el grado académico de Licenciatura en Odontología, "**Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de desinfectantes de cavidades a partir de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y ciprés (*Cupressus*)**", elaborado por las estudiantes: Jeimy Marcela Eduarte Mora, cédula de identidad 1 1278 0774 y Yerilyn Ramírez Ramírez, cédula de identidad 3 0439 0581, por lo tanto, puedo afirmar que está escrito correctamente, según las normas de nuestra Lengua Materna.

Respeté, a lo largo del trabajo, el estilo de los autores.

Atentamente,



Prof. Carlos M. Barrantes Ramírez
Filólogo
Cédula 1 0312 0358
Incorporado al Colegio de Licenciados y Profesores (COLYPRO)
Carné afiliado 16308

Índice general

	Pág.
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	
1.1. Justificación	1
1.2. Planteamiento	4
1.3. Antecedentes sobre el tema	5
1.4. Objetivos del estudio	7
1.4.1. Objetivo general	7
1.4.2. Objetivos específicos	8
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	
2.1. Microbiota oral	10
2.2. Generalidades bacterianas	13
2.3. Bacterias anaerobias	15
2.4. Bacilos Gram negativos entéricos	18
2.4.1. <i>Prevotella</i>	18
2.4.2. <i>Fusobacterium</i>	20
2.5. Cocos Gram positivos	22
2.5.1. <i>Peptostreptococcus</i>	22
2.6. Microbiología en la enfermedad pulpar y periapical	23
2.6.1. Infecciones pulpares y periapicales	24
2.6.2. Abscesos periodontales	26
2.7. Lesiones de origen endodóntico	33
2.8. Eliminación de la infección en un conducto	35

2.9. Funciones del irrigante en la terapia endodóntica	38
2.9.1. Hipoclorito de sodio	39
2.10. Plantas medicinales	41
2.11. Ciprés	43
2.11.1. Generalidades	43
2.11.2. Descripción morfológica	43
2.11.3. Composición química	44
2.11.4. Propiedades e indicaciones terapéuticas	46
2.12. Tomillo	46
2.12.1. Generalidades	46
2.12.2. Descripción morfológica	47
2.12.3. Composición química	48
2.12.4. Propiedades e indicaciones terapéuticas	48
CAPÍTULO 3. MARCO METODOLÓGICO	
3.1. Extracción del aceite esencial de tomillo y ciprés	51
3.2. Prueba <i>in vitro</i>	54
3.3. Ensayo de actividad antibacteriana	55
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y ANÁLISIS	
4.1. Resultados	58
4.2. Conclusiones	59
4.3. Discusión	60
4.4. Recomendaciones	65
CAPÍTULO 5. PARTE FINAL	
5.1. Cronograma de actividades	67

5.2. Factores facilitadores/Obstáculos y dificultades	76
5.3. Bitácora	77
5.4. Referencias bibliográficas	78
5.5. Apéndices	87

Índice de ilustraciones

	Pág.
Gráfico 1. Halo de inhibición contra <i>Prevotella intermedia</i> , según las distintas concentraciones de extractos de tomillo y ciprés. San José, Costa Rica, 2016.	87
Gráfico 2. Halo de inhibición contra <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , según las distintas concentraciones de extractos de tomillo y ciprés. San José, Costa Rica, 2016.	88
Gráfico 3. Halo de inhibición contra <i>Fusobacterium nucleatum</i> , según las distintas concentraciones de extractos de tomillo y ciprés. San José, Costa Rica, 2016.	89
Figura 1. 500 g de ramas de ciprés utilizado para la extracción del aceite.	90
Figura 2. Equipo de licuado y trituración de ciprés con agua para la extracción de aceite esencial.	91
Figura 3. Licuado de 500 g de ciprés con 4 L de agua en el balón para la extracción de aceite esencial.	92
Figura 4. Equipo de arrastre al vapor para extracción de aceite esencial de ciprés.	93
Figura 5. Mezcla de ciprés contenida en balón suspendido en glicerina al 100 °C – 120 °C.	94
Figura 6. Condensador del equipo de extracción de aceite esencial de	95

arrastre al vapor.

Figura 7. Recolección de extracto de aceite de ciprés puro.	96
Figura 8. Recolección de 9 mL de aceite esencial de ciprés puro.	97
Figura 9. Placas de Petri en agar sangre con bacterias <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> y <i>Peptoestreptococos anaerobius</i> con extractos de tomillo y ciprés e hipoclorito y agua como control.	98
Figura 10. Placas de Petri en agar sangre con bacterias <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> y <i>Peptoestreptococos anaerobius</i> con extractos de tomillo y ciprés e hipoclorito y agua como control.	99
Figura 11. Placas de Petri en agar sangre con bacterias <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> y <i>Peptoestreptococos anaerobius</i> con extractos de tomillo e hipoclorito y agua como control.	100
Figura 12. 850 g de ramas de tomillo utilizado para la extracción del aceite.	101
Figura 13. Equipo de arrastre al vapor para extracción de aceite esencial de tomillo.	102
Figura 14. Mezcla de tomillo contenida en balón suspendido en glicerina al 100 °C – 120 °C.	103
Figura 15. Condensador del equipo de extracción de aceite esencial de arrastre al vapor.	104

Índice de abreviaturas

Centro de Investigaciones en Productos Naturales	CIPRONA
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>F. nucleatum</i>
Hipoclorito de sodio	NaClO
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>P. anaerobius</i>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>P. gingivalis</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>P. intermedia</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>S. mutans</i>
<i>Streptococcus sobrinus</i>	<i>S. sobrinus</i>
Universidad de Costa Rica	UCR

RESUMEN

La caries dental es una enfermedad multifactorial que constituye un problema de salud pública por su magnitud, ocasiona dolor, ausentismo escolar y laboral, dificultades alimenticias, de fonación, estéticas y la posterior aparición de enfermedades pulpares. (1, p1)

Existen diversos tratamientos indicados en procesos cariosos, uno de los realizados cuando hay compromiso pulpar es el tratamiento de conductos. Este es un proceso que permite la desinfección y selle de la porción apical de la pieza dental con el fin de cesar la aparición de sintomatología y signos clínicos propios de la patología pulpar.

Durante miles de años los productos naturales han sido utilizados como alternativa medicinal. Actualmente, ha aumentado su uso en los diferentes campos de la medicina, esto debido a: su alta actividad antimicrobiana, biocompatibilidad, propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. (2, p286)

En la actualidad, se utilizan irrigantes elaborados de forma sintética, sin embargo, se considera necesario hacer uso de las alternativas naturales para disminuir la citotoxicidad presente en los comúnmente utilizados. Por ello esta

investigación pretende describir el comportamiento inhibitorio presentado por el aceite esencial de tomillo y el de ciprés de manera individual, ante la presencia de las bacterias anaerobias: *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *Fusobacterium nucleatum*.

Según los resultados obtenidos, el aceite esencial de tomillo demostró tener actividad antimicrobiana ante *Peptostreptococcus anaerobius*, mientras que el extracto de ciprés presentó efecto inhibitorio contra *Prevotella intermedia*. Sin embargo, ninguno de los dos extractos tuvo efecto frente *Fusobacterium nucleatum*. Para ambas plantas se utilizó el hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 % y agua como sustancias control.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Justificación

Dentro de las principales razones por las que se da la aparición de la caries dental es el acúmulo de biofilme en las piezas dentales. Microorganismos como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus spp.*, entre otros, contribuyen a la formación de éste, el cual durante el metabolismo de carbohidratos libera ácido láctico que difunde en el esmalte, llevando a una pérdida neta de minerales lo que posteriormente puede generar una cavidad. (1, p1)

Existen varios tipos de reacciones dentales ante estímulos externos e internos como las infecciones que, eventualmente, pueden comprometer la vitalidad de la pulpa. El biofilme puede causar una lesión cariosa que de no ser tratada conlleva a la posterior contaminación con los microorganismos responsables de desencadenar la enfermedad pulpar.

La enfermedad pulpar es la respuesta de la parte vital del órgano dental ante un irritante, al que inicialmente se adapta y en la medida de la necesidad se opone, organizándose para resolver favorablemente la lesión. El procedimiento

indicado en las lesiones avanzadas es la realización del tratamiento endodóntico.

(2, p1)

Al realizar endodoncias es imprescindible durante el proceso efectuar la irrigación de conductos radiculares con ciertas sustancias, las cuales por medio de acciones físicas y químicas logran disminuir la carga bacteriana, así como los productos originados en los procesos infecciosos y los residuos pulpares resultantes de la instrumentación.

El NaClO ha sido utilizado frecuentemente como solución irrigante durante el tratamiento de conductos. La importancia terapéutica de esta sustancia en endodoncia radica en su capacidad de acción en la disolución de tejidos y en el gran potencial bactericida que exhibe, pero tiene la desventaja de poseer una alta citotoxicidad por lo que puede ocasionar accidentes.

Juárez señala que entre las consecuencias generadas por accidentes con NaClO se encuentran: extrusión hacia tejidos periodontales a través del foramen apical, infiltración directa a tejidos blandos, inyección dentro del seno maxilar, salpicadura en el nivel ocular, e incluso se reportó un caso de hemorragia cerebral que fue probablemente resultado de la estimulación del V par craneal y del dolor provocado por el químico durante la terapia endodóntica. (3, p175)

Castillo señala que otra desventaja está relacionada con reacciones de hipersensibilidad en las personas alérgicas a este irrigante. En dichos casos la sintomatología inicia con dolor, sensación de quemazón y equimosis; además problemas para respirar, lo cual requiere la movilización a centros hospitalarios. (4, p74)

Se ha demostrado que no es posible evitar por completo estas eventualidades, debido a la facilidad con la que el NaClO puede llegar al tercio apical del conducto y entrar en contacto con los tejidos perirradiculares. Su uso debe realizarse bajo las más exhaustivas medidas de precaución, ya que fuera de la cavidad pulpar las lesiones en los tejidos blandos pueden incluso llegar a comprometer la vida de la persona. (4, p71)

Debido a los efectos adversos del NaClO y a la efectividad que han demostrado algunas plantas medicinales como el ciprés y el tomillo en diferentes estudios, es deber de la profesión odontológica investigar, experimentar y conocer los posibles beneficios que pueden obtenerse con su uso en el tratamiento de conductos radiculares. Esto con el fin de erradicar los efectos citotóxicos provocados por irrigantes comerciales, evitar el fuerte aroma de las sustancias químicas, así como disminuir el estrés clínico tanto para el operador como para la persona bajo tratamiento.

Otro irrigante empleado es el digluconato de clorhexidina a una concentración del 2 %. Es una molécula catiónica con efecto bactericida, que puede permanecer activa en el interior del conducto hasta 12 semanas y presenta poca citotoxicidad; sin embargo, posee una dudosa capacidad para disolver materia orgánica, efecto necesario para el éxito del tratamiento radicular. (4, p74)

1.2. Planteamiento

El objetivo principal de un tratamiento endodóntico consiste en lograr la mayor eliminación de los microorganismos que habitan los conductos radiculares de las piezas dentales posterior a una infección. (5, p149)

Este procedimiento resulta difícil debido a las siguientes razones: la complejidad anatómica que presentan los conductos radiculares, la producción de detritos a lo largo del canal debido a la instrumentación para hacer la preparación biomecánica de las paredes dentinarias internas y la irrigación con sustancias que irritan los tejidos conectivos periapicales. (5, p149)

Por lo mencionado anteriormente, es necesario el uso de irrigantes endodónticos como desinfectantes que faciliten la eliminación del tejido orgánico e inorgánico remanente en los canales radiculares.

En la presente investigación se estudiarán las plantas de tomillo y el ciprés, de forma que se logre establecer si pueden utilizarse como métodos alternativos de irrigación para este tipo de procedimientos, ya que presentan compatibilidad con los tejidos en la cavidad oral porque se trata de plantas inocuas.

Esta investigación pretende responder a la interrogante: ¿Los aceites esenciales de ciprés y tomillo poseen propiedades antimicrobianas contra *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *Fusobacterium nucleatum* útiles para la irrigación de conductos radiculares?

1.3. Antecedentes

Según Moreno et al. se realizó un estudio sobre el empleo de la fitoterapia (uso de plantas medicinales) para aplicarla en enfermedades periodontales en la práctica odontológica. Los resultados arrojaron que los odontólogos apoyan su uso porque, según sea el caso es más fácil para el paciente continuar con el tratamiento en casa, porque son de fácil adquisición y se pueden extraer ya sea del medio natural o en una farmacia. (6, p489)

Se ha considerado que otras plantas pueden ser aprovechadas con mayor periodicidad por los profesionales de la salud debido a su abundancia en la naturaleza, tales como la menta, el orégano, el tomillo, el pino, la salvia, la

naranja, la mandarina, el caisimón de anís, la albahaca, entre otras, pues son ricas en compuestos como carvacrol, cíneol, tujona, timol, trementina, citronelol y citral, así como en sustancias polifenólicas con acción antimicrobiana, comprobadas como elemento primario para tratar afecciones periodontales. (6, p489)

Sin embargo, tal como lo señalan Moreno et al., es necesario ampliar la utilización de más plantas y sus beneficios para innovar en cuanto al tema de tratamientos dentales y poner en práctica los medicamentos herbarios. (6, p492)

En el año 2002, Lamendin realizó una encuesta acerca de 20 plantas medicinales en una población de diversa escala social. El muestreo se basó en los remedios contra padecimientos bucodentales como dolor dental, patología de mucosas, aftas y falta de higiene. La encuesta determinó que desde hacía varios años las personas contaban con conocimiento de diferentes plantas y sus usos, y que dicha información se incrementó con el empleo de nuevas plantas medicinales y el aumento del interés por la terapia con éstas. (7,p1)

En la Universidad de Costa Rica se han efectuado investigaciones en torno a las diferentes plantas que el folclore popular considera poseen propiedades medicinales; en el año 2012, se hizo un estudio con las plantas de güisaro y juanilama, ambas presentaron una actividad antimicrobiana mínima. (8, p26)

En el año 2013, se desarrolló la segunda etapa del proyecto, en la cual se compararon extractos de té negro y ajo, en este caso no se obtuvo actividad bacteriana contra *S. mutans* en comparación con el digluconato de clorhexidina al 2 %. (9, p35)

La tercera etapa consistió en comparar la efectividad antimicrobiana de las plantas: hombre grande, piña y ruda con respecto del digluconato de clorhexidina al 2 %, cuyos resultados para el hombre grande en estado puro fue de poca sensibilidad al extracto, la piña no presentó actividad antimicrobiana ante *S. mutans*; la ruda presentó una mayor actividad, sin embargo, ninguna de estas plantas logró superar el efecto de la sustancia control. (10, p40)

Por último, en la cuarta etapa del trabajo de investigación alternativas no tradicionales para el control del biofilme dental, se trabajó una muestra de macadamia y tomillo. Se concluyó que el extracto de macadamia no presenta propiedades como desinfectante de cavidades orales, por otro lado, el extracto oleoso de tomillo resultó tener una alta capacidad antimicrobiana. (11, p35)

1.4. Objetivos del estudio

1.4.1. Objetivo general

Evaluar la efectividad del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y de ciprés (*Cupressus*) en comparación con el hipoclorito de sodio al 5 % y el agua para ser empleados como irrigantes durante la preparación biomecánica de conductos radiculares.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Describir las características de las principales bacterias anaerobias presentes en los conductos radiculares para reconocer su papel en estos procesos infecciosos.
2. Estudiar las características de las plantas *Thymus vulgaris L.* y del *Cupressus* para conocer si poseen propiedades terapéuticas que permitan utilizarlos como irrigantes en los tratamientos de conductos radiculares.
3. Realizar pruebas de inhibición del crecimiento bacteriano con el extracto de ciprés y el de tomillo en cultivos *in vitro* de *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *Fusobacterium nucleatum* para determinar su efectividad contra estos microorganismos.

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1. Microbiota oral

El término microbiota normal se refiere a la población de microorganismos que habita en la piel y mucosas de las personas sanas. (12, p150)

Se estima el número de microorganismos que viven dentro del ser humano es 10 veces mayor respecto de la cantidad de células somáticas y germinativas. Los genomas de estos simbiontes microbióticos se denominan en conjunto microbioma. (12, p150)

Se ha demostrado que la microbiota normal proporciona la primera línea de defensa contra los organismos patógenos, ayuda a la digestión, participa en la degradación de toxinas y contribuye a la maduración del sistema inmune. (12, p150)

Según Brooks et al., algunas bacterias de la microbiota normal, por ejemplo, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*, son causas importantes de diversas enfermedades. En ocasiones existen bacterias altamente patógenas, pero la infección permanece latente o subclínica y el hospedero es solo un portador de la bacteria. (12, p150)

Las vías de entrada más frecuentes de bacterias patógenas al cuerpo son los sitios donde las mucosas se unen con la piel como aparato respiratorio, tubo digestivo (principalmente la boca), aparato genital y urinario, las áreas donde existen lesiones como quemaduras, laceraciones y otros que también constituyen sitios de entrada. La piel y mucosa intactas proporcionan la defensa principal contra la infección (12, p151). De manera que para producir una enfermedad, los microorganismos patógenos deben vencer estas barreras para ingresar a los tejidos.

Los seres humanos adultos presentan una comunidad bacteriana diferenciada. Sin embargo, los neonatos albergan comunidades bacterianas indiferenciadas en los diversos hábitats del organismo. Por lo tanto, durante el primer estadio del desarrollo comunitario (menos de 5 minutos después del parto), la microbiota se distribuye de manera homogénea en el cuerpo. (12, p167)

Los lactantes que nacen por vía vaginal albergan comunidades bacterianas con una composición muy similar a las comunidades vaginales de sus madres; mientras que los recién nacidos por cesárea carecen de ese tipo de bacterias (por ejemplo, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium* y especies de *Sneathia*). En contraste, los neonatos que nacen por cesárea albergan comunidades bacterianas

que son más similares a las comunidades cutáneas de la madre (por ejemplo, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* o especies de *Propionibacterium*). (12, p167)

En las primeras horas después del nacimiento, el *Streptococcus viridans* se establece como el miembro principal de la microbiota oral normal y permanece así por toda la vida. Luego se agregan estafilococos aerobios y anaerobios, diplococos Gram negativos (*Neisseria*, *Moraxella catarrhalis*), difteroides y algunos lactobacilos. (12, p167)

Durante la erupción dental se establecen espiroquetas anaerobias, especies de *Prevotella*, especies de *Fusobacterium*, además de algunos vibrios anaerobios y lactobacilos. Especies de *Actinomyces* existen en el tejido amigdalino y las encías de los adultos y en la boca existen levaduras como especies de *Candida*. (12, p169)

Las bacterias presentes en la cavidad oral que se adhieren a las superficies dentales se conforman en el llamado biofilme dental, que está integrado casi en su totalidad por bacterias derivadas de la microbiota normal de la boca. (12, p169)

El biofilme inicialmente se forma en relación con la película dental, la cual es una capa orgánica delgada y fisiológica que cubre la superficie mineralizada del

diente y está compuesta por proteínas y glucoproteínas derivadas de la saliva y otras secreciones bucales. (12, p169)

Posteriormente, el biofilme dental crece en relación con la película y no sobre el propio diente; ubicándose primero en relación con la línea gingival y luego se forman varias capas dentro del mismo biofilme. (12, p169)

Como establecen Brooks et al., los microorganismos que inicialmente conforman el biofilme dental son principalmente bacterias Gram positivas que por medio de interacciones iónicas e hidrofóbicas específicas y por estructuras superficiales (como lectina), se adhieren a la película y a otras bacterias. (12, p169)

El colonizador prototipo inicial es *Streptococcus sanguis*, pero casi siempre existen otros estreptococos (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. gordonii*), lactobacilos y especies de *Actinomyces*. (12, p169)

Los pobladores tardíos aparecen en el biofilme de 2 a 4 días después y constan principalmente de anaerobios Gram negativos. En total se cree que existen entre 300 y 400 especies de bacterias en el biofilme dental maduro. (12, p169)

Cuando los procesos de biofilme se vuelven patógenos es posible que se presenten lesiones de caries dental, las cuales producen desintegración de las estructuras dentales. Las lesiones empiezan en la superficie y avanzan hacia el interior del diente. (12, p169)

Primero, debido a los productos ácidos de la actividad metabólica glucolítica de las bacterias se desmineraliza el esmalte superficial. Se considera que el microorganismo dominante al principio de la caries es *S. mutans*, sin embargo, muchos miembros de la biofilme participan en la evolución de estas lesiones, entre ellos otros estreptococos (*S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*), lactobacilos (*L. acidophilus*, *L. casei*) y actinomicetos (*A. viscosus*, *A. naeslundii*). (12, p169)

La causa fundamental de la caries dental es la gran cantidad de productos ácidos orgánicos generados a partir de los carbohidratos por la interacción de *S. mutans* con estas otras especies en el biofilme. La acumulación de los ácidos provoca el descenso del pH en el biofilme dental lo suficiente como para reaccionar con la hidroxiapatita del esmalte, desmineralizándolo hasta formar calcio soluble e iones fosfato. (12, p169)

2.2. Generalidades bacterianas

Las bacterias son microorganismos que pertenecen al reino procariota, éstas se reproducen mediante fisión binaria y presentan tres formas básicas: esféricas o cocos, alargadas o bacilos y curvadas o espirilos (que pueden ser también comas, espiroquetas y vibrias). Asimismo, demuestran variaciones morfológicas: forma de estrella, planas y rectangulares, alargadas y por último, aquellas que forman pedúnculos no celulares. (13, p2609)

Las células bacterianas pueden ser observadas macroscópicamente cuando se encuentran en grupos (colonias), mientras que las colonias celulares son agrupaciones formadas por la reproducción de las bacterias incubadas alrededor de 24 horas aproximadamente. Por otra parte, algunas otras requieren un mayor tiempo para formar colonias de millones de bacterias. El tamaño de las colonias varía desde 0,5 a 4 milímetros de diámetro llegando a tener una forma circular, puntiforme, irregular, rizoide o fusiforme. (13, p2609)

Estos microorganismos pueden observarse a través de un microscopio óptico o electrónico con una adecuada tinción (puesto que son incoloras), sin embargo, también pueden visualizarse sin tinción cuando se colocan en soluciones no acuosas para aumentar el índice de refracción. (13, p2609)

Se denominan bacterias Gram negativas a los microorganismos que tienen una reacción con la tinción Gram en su pared celular, de tal forma que adquieren

un color rosa, a diferencia de las Gram positivas que se tiñen de azul oscuro o violeta. Las bacterias Gram negativas no retienen el colorante de cristal violeta durante el proceso de coloración debido a que presentan una capa muy delgada de glucano en su pared celular y su capa más externa está cubierta por una membrana de lipoproteínas.

Hay muchas especies de bacterias Gram negativas, agrupadas en varias familias y existen diferentes formas de clasificarlas, según forma, óptimo de temperatura, pH en el que se desarrollan y requerimiento de oxígeno para poder permanecer con vida. Esta última característica agrupa a estos microorganismos en bacterias: aerobias estrictas, anaerobias estrictas y anaerobias facultativas. (13, p2609)

2.3 Bacterias anaerobias

Anaerobios son aquellos microorganismos que sólo pueden desarrollarse en ausencia de cantidades significativas de oxígeno y bajo condiciones de potenciales REDOX muy reducidos. Las formas vegetativas mueren cuando son expuestas al oxígeno molecular libre en la atmósfera, aunque el grado de resistencia bajo estas condiciones es variable. (14, p355)

Si bien, se considera bacteria anaerobia aquella que puede crecer sólo en ausencia de oxígeno, la sensibilidad frente al oxígeno varía ampliamente de una especie a otra. Así, se distinguen bacterias microaerófilas, aerotolerantes y anaerobios estrictos u obligados. Las bacterias microaerófilas resultan dañadas por niveles altos de oxígeno como el atmosférico (21 %) y requieren niveles bajos de O₂ para crecer, en el rango de 2 a 10 %. (14, p355)

Los anaerobios poseen un metabolismo de tipo fermentativo, en el cual las sustancias orgánicas son los receptores finales de electrones, aunque también pueden obtener energía a partir de la respiración anaerobia. Poseen requerimientos nutricionales complejos; por su lento crecimiento y labilidad, sumado a sus requerimientos atmosféricos estrictos de oxígeno (O₂) y dióxido de carbono (CO₂) hace que su aislamiento sea difícil (14, p355).

Se pueden separar en dos categorías, según su importancia, las toxinas producidas por los clostridios; y una serie de estructuras y sustancias de mucho menor poder patógeno que se observan en varias especies de microorganismos no esporulados. Se conocen los lipopolisacáridos de superficie de varias especies de *Fusobacterium*, *Veillonella* y *Bacteroides*. Estas sustancias tienen una actividad endotoxica similar a las de los bacilos gramnegativos facultativos. Su actividad es algo menos potente, pero se ha demostrado su capacidad (en bacteroides) de

participar en la producción de abscesos y de causar hipercoagulabilidad. (14, p357)

El polisacárido capsular de los bacteroides del grupo *fragilis* es otro factor de virulencia importante, ya que se comporta en forma similar a las cápsulas de otras bacterias, es decir, le confiere al microorganismo “la lanza y el escudo” en cuanto favorece su poder invasivo y dificulta la acción defensiva de los leucocitos polimorfonucleares. Además, está demostrada su participación en la formación de abscesos. (14, p357)

La mayoría de las bacterias anaerobias que causan infecciones en humanos son parte de la microbiota normal de piel y mucosas. Dichas infecciones ocurren cuando los microorganismos accedan a un sitio normalmente estéril como resultado de la ruptura de alguna barrera anatómica. (14, p358)

Diversas enzimas producidas por los microorganismos anaerobios deben considerarse factores de virulencia, las principales son: colagenasas, hialuronidasas, ADNasas, elastasas, heparinasas. También, deben incluirse aquellas enzimas que protegen contra la acción letal del O₂ tales como catalasa y superóxido-dismutasa, en cuanto permiten la supervivencia del microorganismo en un ambiente adverso hasta que se presenten las condiciones favorables. (14, p358)

Los medios de cultivo primarios para la siembra de una muestra de anaerobios incluyen un medio no selectivo como el agar sangre y algún medio selectivo. Además, otra placa de agar sangre se inocula e incuba en aerobiosis, ya que la mayoría de las infecciones por anaerobios son polimicrobianas e incluyen bacterias aerobias y facultativas. (14, p360)

Luego de sembrar la muestra en un medio de cultivo adecuado, la incubación en anaerobiosis se consigue por diferentes sistemas, tales como jarras anaeróbicas, bolsas de anaerobiosis y la cámara de anaerobiosis. El último método es muy caro, requiere equipamiento complejo, además es lento y se usa para estudios de microbiota normal y en laboratorios altamente especializados. (14, p360)

2.4. Bacilos Gram negativos entéricos

2.4.1. Prevotella

De acuerdo con Brooks et al., las especies del género *Prevotella* son bacilos Gram negativos y pueden tener el aspecto de bacilos delgados o cocobacilos; de los cuales *P. melaninogenica*, *P. bivia* y *P. disiens* se aíslan con mucha frecuencia. *P. melaninogenica* y especies similares se detectan en infecciones de las vías respiratorias.

En estas infecciones las prevotellas suelen acompañar a otros microorganismos anaerobios que son parte de la microbiota habitual, sobre todo peptoestreptococos, bacilos Gram positivos anaerobios facultativos, Gram positivos y Gram negativos. (12, p296)

Las especies del género *Prevotella* residentes de cavidad bucal son consideradas en su mayoría microorganismos periodontopatógenos. El hábitat primario en cavidad bucal es el surco gingival, y se han asociado con casos de periodontitis, infecciones de conductos radiculares y abscesos de origen dental y periodontal. (14, p379)

Comprenden especies moderadamente sacarolíticas, catabolizan la glucosa por la vía de glucólisis. Son microorganismos de crecimiento exigente y requieren de vitamina K, hemina o sangre. (15, p1)

En relación con la etiología en las enfermedades periodontales la especie más implicada es *P. intermedia*, cuya incidencia aumenta durante el desarrollo de gingivitis y periodontitis. Otra especie involucrada en afecciones periodontales es *P. nigrescens*. (15, p1)

Se considera que el papel de los microorganismos del género *Prevotella* en el desarrollo de enfermedades periodontales se debe a través de procesos de sinergia con otros microorganismos. Algunos mecanismos de virulencia son: la presencia de fimbrias encargadas de proveer poder adhesivo, la presencia de adhesinas (moléculas que interactúan con un receptor proteico ubicado en otra bacteria), otras adhesinas como residuos proteicos y glucoproteicos superficiales; la capacidad para degradar inmunoglobulinas, la acción tóxica sobre los fibroblastos y la actividad fibrinolítica e inhibición de células B, entre otros. (15, p1)

2.4.2. *Fusobacterium*

Son alrededor de 13 especies de *Fusobacterium*, pero la mayor parte de las infecciones en seres humanos son causadas por *F. necrophorum* y *F. nucleatum*, este último es un bacilo delgado con extremos convergentes (forma de aguja) y es componente importante de la microbiota gingival, así como de los sistemas genital, digestivo y de las vías respiratorias superiores. Las dos especies tienen una morfología y hábitats diferentes, lo mismo que la gama de infecciones que producen. (12, p 297)

Las bacterias que conforman el género *Fusobacterium* se caracterizan por ser bacilos largos fusiformes, inmóviles, no esporulados y generalmente no fermentativos. La producción de ácido butírico como principal producto metabólico

permite diferenciar a *Fusobacterium* de *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Bacteroides*. (15, p4)

Se han descrito varias especies que habitan en el surco gingival en la cavidad bucal, entre ellas las más comunes son *F. nucleatum*, *F. naviforme*, *F. periodonticum*, *F. alocis* y *F. sulci*. Estas especies se han relacionado con la enfermedad periodontal, sin embargo, su significancia como patógenos es dudosa, a excepción de *F. nucleatum*, especie que se ha sido aislado con mayor frecuencia en el surco gingival. (15, p4)

Su poder patógeno está asociado a la presencia de fimbrias y de lipopolisacáridos, a la producción de factores solubles inhibidores de la quimiotaxis de los polimorfonucleares y a la elaboración de metabolitos que se comportan como compuestos tóxicos tisulares. (15, p4)

La bacteria *F. necrophorum* es muy virulenta y produce infecciones graves de órganos de la cabeza y el cuello que pueden evolucionar a una infección complicada llamada enfermedad de Lemierre. Esta se caracteriza por tromboflebitis séptica aguda de la vena yugular que evoluciona a septicemia con abscesos metastásicos en los pulmones, el mediastino, el espacio pleural y el hígado.

El *F. nucleatum* a menudo se aísla en diversas infecciones clínicas como las pleuropulmonares, las infecciones obstétricas, la corioamnionitis significativa y a veces en abscesos cerebrales que complican la enfermedad periodontal. (12, p297)

2.5 Cocos Gram positivos

De acuerdo con Brooks et al., el grupo de los cocos Gram positivos anaerobios ha experimentado una notable expansión taxonómica. Son miembros importantes de la microbiota habitual de la piel, la cavidad bucal, las vías respiratorias superiores, el tubo digestivo.

Los miembros de este grupo son microorganismos patógenos oportunistas y muy a menudo se detectan en infecciones mixtas. Sin embargo, estos microorganismos se han relacionado con infecciones graves como abscesos cerebrales. (12, p298)

2.5.1 Peptostreptococcus

Este tipo de bacterias se disponen en parejas o cadenas, la mayoría son anaerobias facultativas; sin embargo, según sus requerimientos atmosféricos pueden ser capnofílicas, es decir, que requieren de dióxido de carbono para su

crecimiento. Realizan fermentación de carbohidratos y producen ácido láctico, pero a diferencia de los estafilococos son catalasa negativos. (12, p209)

Según Murray et al., este conjunto de estreptococos es muy común en la orofaringe por lo que se les asocia de manera frecuente con caries dental y gingivitis. También, se aíslan en tractos gastrointestinal y urogenital, además causan infecciones de tipo intraabdominal supuradas y la endocarditis subaguda luego de liberarse al torrente sanguíneo post extracción dental. (16, p180)

Riggio reportó un caso en el que se describe un PCR (proteína C reactiva) específico para el ADN del *P. anaerobius* y su aplicación en su detección dentro del biofilme subgingival y el pus en pacientes que presentan abscesos periodontales (17, p1098). Esta bacteria está involucrada en infecciones de cavidad oral como enfermedad periodontal por lo que está asociado con procesos de gingivitis y periodontitis. Establece que es una de las especies más frecuentemente encontradas en canales radiculares en presencia de periodontitis apical y además, es el único microorganismo Gram positivo anaerobio que produce ácido isocaproico como producto final del metabolismo. (17, p1098)

2.6. Microbiología en la enfermedad pulpar y periapical

La pulpa se forma por tejido conjuntivo indiferenciado de origen mesenquimatoso muy vascularizado, innervado y rico en células inmunológicamente competentes. Sus paredes de dentina son rígidas, al igual que el esmalte y el cemento, garantizando así un aislamiento del ambiente séptico de la cavidad bucal. Estas paredes pueden debilitarse por agentes agresores de naturaleza biológica, química o física, provocando en la pulpa inflamación de carácter agudo o crónico. (18, p4)

El cuadro clínico y la gravedad de la infección está relacionado con la interacción entre la microbiota presente en los conductos radiculares y la cámara pulpar tras la infección bacteriana, y la respuesta defensiva del hospedero. (18, p4)

2.6.1. Infecciones pulpares y periapicales

Las infecciones odontogénicas afectan estructuras que forman el diente y el periodonto; incluyen caries, pulpitis, absceso periapical, gingivitis, periodontitis y pericoronitis. Las infecciones de la cavidad oral están conformadas por microorganismos, tanto aerobios como anaerobios, los cuales pueden comportarse de manera oportunista. (19, p2)

Las personas de cualquier edad son susceptibles a este tipo de infecciones, entre las más afectadas están aquellos con una condición sistémica comprometida.

Estas afecciones pueden desencadenar desde procesos como abscesos periapicales o periodontales hasta aquellas infecciones que invaden los espacios aponeuróticos de cabeza y cuello, las cuales pueden comprometer la vida de la persona. (19, p2)

Las infecciones odontogénicas pueden tener causas primarias dentales y periodontales habitualmente relacionadas con caries, enfermedad periodontal (gingivitis y periodontitis) o con padecimientos durante la erupción como pericoronitis. (19, p2)

Dentro de las causas secundarias se encuentran las iatrogénicas: diferentes procesos odontológicos (anestesia, endodoncia, periodoncia, exodoncia) realizados en cualquier nivel de la estructura dental, el periodonto o directamente en el hueso; los traumatismos agudos faciales como fracturas faciales y alveolares o los microtraumas como bruxismo, pueden provocar lesiones en el paquete neurovascular ocasionando necrosis pulpar e infección dental. (19, p2)

Según Kovac, una pulpitis es causada por agentes microbianos que entran hacia la pulpa dental y forman una lesión cariosa hacia los túbulos dentinales. Se considera que hay un número de bacterias mínimo mientras la pulpa se mantenga viva. Sin embargo, en procesos de infección como necrosis y periodontitis apical todo el sistema de conductos se ve invadido por microorganismos. (20, p410)

La meta con la gran mayoría de tratamientos endodónticos es prevenir o tratar la periodontitis apical y así eliminar la infección microbacteriana. Para esta exclusión, es totalmente necesario el uso de desinfectantes en forma de soluciones irrigantes. (20, p410)

2.6.2. Abscesos periodontales

Existen infecciones que se originan en las piezas dentales o en el periodonto y al no ser atendidas a tiempo pueden provocar un absceso.

Los abscesos periodontales presentan una serie de síntomas, tales como la inflamación purulenta localizada en los tejidos periodontales, la cual, a su vez, causa dolor y tumefacción. Los abscesos pueden ser de tipo periapical, periodontal y pericoronario. (21, p496)

Según Lindhe el absceso periodontal contiene bacterias, subproductos bacterianos, células inflamatorias, productos de la degradación tisular y suero. La bolsa periodontal constituye un agrandamiento patológico del surco gingival, es una cavidad con ausencia de luz donde se impide el drenaje y la infección de la misma hacia los tejidos blandos de su pared, generando así la formación del absceso. (21, p497)

La entrada de bacterias en la pared blanda de la bolsa constituye el evento desencadenante de la formación de un absceso periodontal. No obstante, la acumulación de leucocitos y la formación del infiltrado inflamatorio agudo constituyen las causas principales de la destrucción del tejido conjuntivo, la encapsulación de bacterias y la formación de pus. (21, p497)

La destrucción tisular es causada principalmente por células inflamatorias y sus enzimas extracelulares, sin embargo, la patogenia del absceso periodontal todavía no ha sido develada. Se cree que un absceso periodontal se forma por oclusión o trauma del espacio del saco periodontal cuyo resultado es la extensión de la infección desde el saco hacia los tejidos blandos de la pared. (21, p497)

En la mayoría de los casos el absceso periodontal se presenta en un saco preexistente, los tejidos epiteliales pueden volver a adherirse a la raíz del diente mientras las bacterias y los desechos permanecen en la porción apical. Cuando la

porción coronal se cierra impide el drenaje y puede resultar en un absceso. A mayor profundidad del saco aumenta la probabilidad que aparezca un absceso después de la cicatrización parcial. (22, p2)

Luego se forma un infiltrado inflamatorio, el cual resulta en una destrucción del tejido conectivo, encapsulado de masa bacteriana y formación de pus (21, p497). La resistencia tisular reducida, la virulencia y la cantidad de bacterias presentes determinan la evolución de la infección. (22, p7)

Desde la parte histológica, en el área central del absceso y cerca de los detritos de tejidos blandos se hallan neutrófilos. En un estadio posterior se organiza una membrana biogénica compuesta por macrófagos y neutrófilos. La velocidad de destrucción tisular dentro de la lesión dependerá del crecimiento bacteriano dentro de los focos, la virulencia de microorganismos y el pH local. Un ambiente ácido favorece la actividad enzimática lisosómica, asimismo permite la destrucción tisular. (22, p7)

Existen diversos factores que provocan formación de un absceso periodontal, por ejemplo, cuando un material extraño se introduce por la fuerza dentro del tejido gingival u ocluye el orificio del saco, las bacterias proliferan y surge una infección bacteriana. (22, p2)

Un absceso periodontal también puede formarse debido al uso inapropiado de aparatos para la irrigación bucal, los cuales introducen bacterias dentro del conducto de los tejidos. Otros factores etiológicos pueden ser: la maloclusión, la oclusión traumática, el estado hormonal, el uso de drogas, la respiración bucal, condiciones como la diabetes, las anomalías genéticas, o bien, perforaciones laterales de los conductos durante la preparación endodóntica y la presencia de anomalías en la anatomía dental. (22, p2)

Los abscesos periodontales pueden ser: crónicos, agudos, únicos o múltiples, gingivales o periodontales, esto, según el sitio donde se localicen (tejidos de sostén o encía). (22, p3)

Según la localización, los abscesos periodontales se clasifican en (22, p4-6):

- Absceso gingival: se caracteriza por ser una infección purulenta localizada en la encía marginal o papila interdental. Están vinculados con la acumulación de objetos extraños que se introducen por la fuerza dentro del tejido gingival, lo que facilita la entrada y proliferación de bacterias.

- Absceso periodontal: caracterizado por ser una infección purulenta localizada, con destrucción del ligamento periodontal y del hueso alveolar.
- Absceso pericoronar: es una infección purulenta alrededor de la corona de un diente parcialmente erupcionado. Los terceros molares mandibulares son las piezas que con mayor frecuencia tienen problemas de este tipo, pero también afectan a los terceros molares maxilares. Debido al acúmulo de bacterias y al colgajo ubicado sobre la superficie oclusal presenta inflamación aguda muy dolorosa, la cual entra en oclusión con el diente opuesto y se traumatiza durante la masticación. Con la inflamación en aumento la condición se hace más grave, incrementa el tamaño, es posible la presencia de trismus y temperatura elevada y hay acumulación de exudado inflamatorio en los tejidos adyacentes.
- Absceso con destrucción periodontal: es el que aparece inmerso en un saco preexistente, el cual puede resultar en un absceso por exacerbación de una lesión crónica, postratamiento o uno postantimicrobiano.
- Absceso por exacerbación de una lesión crónica: se da debido a un cambio en la virulencia de las bacterias subgingivales o una disminución de las defensas sistémicas del hospedero. A este grupo pertenecen los abscesos

que aparecen en la fase de mantenimiento del tratamiento periodontal, periodontitis recurrente o periodontitis no tratada o refractaria.

- Absceso postratamiento: a este grupo pertenece el absceso periodontal que aparece después de la cirugía relacionado con un raspado incompleto, sutura o membrana de regeneración periodontal. Se da en la fase posterior al raspado debido a una instrumentación defectuosa, ya sea que queden restos de cálculo, o bien, que hayan sido empujados hacia los tejidos periodontales profundos.
- Absceso periodontal postantimicrobiano: aparece en personas que toman antimicrobianos sistémicos sin una correcta instrumentación, por lo que la microbiota puede cambiar y desarrollar una sobreinfección y absceso.
- Abscesos por lesiones endoperiodontales: pueden ser lesiones primarias endodónticas con afección secundaria periodontal. En esta situación, la pérdida ósea es causada por un problema periodontal generalizado o localizado, el cual al evolucionar provoca que las bacterias contaminen el complejo dentinopulpar y se produzca necrosis.

- Absceso sin destrucción periodontal: se desarrollan en personas sin sacos periodontales preexistentes. A este tipo pertenecen los siguientes (22, p6):
 - Absceso por acumulación: relacionado con la presencia y empacado de cuerpos extraños en el surco gingival o por higiene bucal traumática. Al relacionarse con las cerdas del cepillo de dientes equivaldría a un absceso gingival o absceso de higiene bucal y dispositivos ortodónticos.
 - Absceso radicular: relacionado con la morfología de la raíz, como son los casos de reabsorción radicular externa y desgarrado del cemento radicular o perforaciones endodónticas, diente figurado e invaginado. Este grupo se interrelaciona con el de absceso dentoalveolar. La localización es en el nivel de una zona topográfica limitada, de fácil exploración. Existen adenopatías satélites, elevación de temperatura, movilidad del diente, extrusión y dolor a la percusión.

Según la evolución clínica los abscesos se clasifican en agudos o crónicos (22, p6):

- Agudos: aparecen de forma rápida, pueden expulsar contenido purulento del margen gingival mediante presión digital. Generalmente, la elevación es

de forma ovoide en la encía tiene una coloración roja y edematosa. Si no es tratada puede evolucionar a una condición crónica. (22, p6)

- Crónicos: se presentan como una fístula que se abre en el nivel de la mucosa gingival. Al realizar sondaje de la fístula es posible determinar un trayecto fistuloso en la profundidad de los tejidos periodontales. En la superficie de la fístula puede haber tejido de granulación. Suele ser asintomático en los periodos de latencia; se reagudiza esporádicamente y presenta dolor, elevación del diente, movilidad y exudación intermitente. (22, p6)

2.7. Lesiones de origen endodóntico

Existen influencias adversas que no solo ponen en peligro funciones vitales de la pulpa, sino que pueden ocasionar complicaciones infecciosas con efectos locales y generales. (21, p504)

Las lesiones de origen endodóntico se extienden en el aparato de inserción produciendo signos y síntomas de inflamación en las zonas apicales de las piezas dentales. Pueden llegar a inducir destrucción de tejidos en zonas laterales de las raíces y en furcaciones de las piezas birradiculares y multirradiculares debido a

elementos nocivos que se empiezan a albergar en el espacio pulpar, los cuales llegan por medio de las aberturas que comunican con los tejidos periodontales; esto acrecienta la infección en el sitio. (21, p504)

Este tipo de lesiones se mantienen debido a los microorganismos que habitan en la pulpa destruida. Sin embargo, las lesiones también prevalecen posterior al tratamiento endodóntico, ya que las maniobras de desinfección pudieron no ser efectivas.

Al tener el periodonto y la pulpa dental una íntima interconexión anatómica, se suele dar un intercambio de sustancias nocivas en sentido inverso desde el medio externo hacia la pulpa, de manera que una lesión pulpar tiene su foco primario de infección por la fuente de la exposición bacteriana (21, p504). Por lo tanto, la lesión de tejido periodontal sólo es definitiva, según la extensión ocasionada por la destrucción de la pulpa y la contaminación bacteriana. (21, p506)

El desenlace final de una destrucción inflamatoria de la pulpa se produce debido a la ocupación microbiana del espacio pulpar. Existe un momento en donde los mecanismos de defensa del hospedero son incapaces de alcanzar los conductos radiculares de las pulpas necróticas, de manera tal que no logran combatir la infección. (21, p510)

Lindhe hace mención de las características presentes dentro de la microbiota de las infecciones endodónticas primarias, las cuales son similares a las de las bolsas periodontales profundas donde los anaerobios suelen desempeñar el papel dominante. Existen estudios de cultivos que indican la intervención de cepas virulentas de especies de *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus*. (21, p513)

Los procesos inflamatorios del periodonto vinculados con las pulpas dentales necróticas tienen una etiología infecciosa similar a la enfermedad periodontal, esto ocurre por la interrelación que existe entre las lesiones periodontales con las endodónticas. Sin embargo, la enfermedad periodontal se mantiene gracias a la acumulación bacteriana ubicada en la región dentogingival mientras que las lesiones endodónticas tienen una relación directa con los elementos infecciosos liberados desde el espacio pulpar. (21, p516)

2.8. Eliminación de la infección en un conducto

El principal objetivo del tratamiento de conductos es evitar la periodontitis apical mediante la eliminación de la infección microbiana del sistema de conductos radiculares. (5, p149)

Para que un tratamiento endodóntico sea exitoso se debe completar la desinfección y la limpieza del contenido del conducto radicular, el cual puede estar infectado de manera vital o necrótica. (20, p411)

Según Kovac, en 1980 Bistrom y Sundqvist examinaron el efecto mecánico producido en tratamientos endodónticos. Tomaron muestras bacteriológicas previas y posteriores a la remoción mecánica de los conductos radiculares. En dicho estudio se concluyó que existió una disminución del número de bacterias, por lo que se consideró de vital importancia combinar el tratamiento mecánico con los efectos químicos de los antibacterianos, específicamente de 1 a 5 % de hipoclorito de sodio durante la remoción mecánica y la eliminación de detritus del conducto radicular. (20, p411)

Con el método mecánico se busca que una bacteria pierda gradualmente su nutrición, disminuya su virulencia y de acuerdo con algunos autores hasta desaparezca; no obstante, con solo este tipo de procedimiento no puede evitarse del todo la permanencia de bacterias dentro del conducto. (20, p 411)

Según Kovac, las investigaciones demuestran que un 90 % de las bacterias encontradas dentro de los canales infectados son anaerobias. Uno de los factores determinantes que permite el aumento de la infección es la nutrición bacteriana,

por esta razón, los microorganismos altamente patógenos aparecen en el canal solamente cuando ya han ocurrido infecciones. (20, p412)

La profundidad de la infiltración microbiológica en la dentina depende de varios factores como: la edad del paciente, la infiltración infecciosa dentro del canal, la longitud de comunicación del canal oral y la longitud del canal radicular, por lo que cuanto más infectado esté un canal radicular mayor cantidad de bacterias anaeróbicas estarán presentes. (20, p412)

Algunos tipos de bacterias poseen una etiología predominante. En el caso de la periodontitis apical existen, por ejemplo: bacterias anaerobias facultativas (como *E. faecalis*) y especies como *Veillonella*, *Fusobacterium* y *Prevotella*. Especialmente la *Enterococcus faecalis* es considerada una de las bacterias más resistentes en la cavidad bucodental y es una de las principales razones por las que se dan los fracasos endodónticos. (20, p412)

Han surgido agentes para la desinfección de canales radiculares. Uno de los más notables es el NaClO que se utiliza como irrigante y su principal acción es la desinfección, la cual permite remover a los microorganismos contaminantes presentes dentro de la infección. También, se da el uso de hidróxido de calcio como una medicación temporal durante el tratamiento endodóntico. (20, p412)

2.9. Funciones del irrigante en la terapia endodóntica

La eliminación bacteriana, así como la remoción de tejido necrótico y de partículas de dentina del conducto radicular se aumenta con el uso de los irrigantes intraconducto.

Una respuesta inflamatoria en el organismo se puede evitar con la correcta remoción del detritus. Kovac establece que el contenido de un canal infectado posee el más alto potencial inflamatorio, por lo que recomienda utilizar de 1 a 2 mL de solución de irrigante por cada conducto. (20, p413)

Según Cruz et al., los irrigantes deben tener capacidad de disolver el tejido orgánico, ser antimicrobianos de amplio espectro eficaces contra microorganismos anaerobios y facultativos, ofrecer la posibilidad de inactivar endotoxinas y prevenir la formación de detrito y lodo dentinario durante la instrumentación, o disolverlos una vez formados. (5, p151)

Además, el irrigante ideal en contacto con tejido vital no debe ser tóxico para los tejidos periodontales y tener poco potencial para causar una reacción anafiláctica; no obstante, aún no existe un irrigante con todas esas propiedades. (5, p151)

Según Kovac, dentro de las funciones del irrigante se encuentran (20, p413):

- El efecto antimicrobiano que permite la destrucción de virus y esporas dentro del canal.
- La disolución de los remanentes pulpares. Aún después de realizar la preparación del canal radicular existen algunos lugares como canales accesorios y anastomosis donde se alojan remanentes de pulpa, por lo tanto, la irrigación es necesaria para llegar a estas zonas de difícil acceso y así poder depurar esos conductos.
- La obtención de un efecto lubricante que facilite la movilización del instrumental dentro del canal y evite una posible perforación.

2.9.1. Hipoclorito de sodio

El NaClO constituye el irrigante más frecuentemente utilizado en tratamientos endodónticos.

Durante la Primera Guerra Mundial fue empleado para remover remanentes necróticos. Posterior a esto, en el campo de la medicina se implementó a inicios de la década de 1920 y en endodoncia a partir de 1936. (20, p413)

Dentro de sus propiedades se encuentra el efecto proteolítico y se destaca su función bactericida, los cuales perduran hasta que el gas clorina esté presente en la solución. Por otra parte, su característica antibacteriana y virucida se alcanza por un proceso oxidativo del oxígeno, así como la adición de cloro que tiene una función oxidativa, por lo que como resultado se destruye el citoplasma y se inhiben las deshidrogenasas de los microorganismos. (20, p413)

El NaClO se disuelve en oxígeno y cloro, cuando reacciona con tejidos vitales se libera oxígeno y como subproducto cloruro de sodio (NaCl), el cual es inocuo. Las concentraciones endodónticas de NaClO van de 0,5 a 5,25 %, diferentes estudios han demostrado que la concentración de 1 % provee efectos antibacterianos óptimos y que una concentración mayor a esto no provoca un cambio sustancial. Sin embargo, a una concentración mayor el tiempo requerido para inhibir el crecimiento bacteriano es menor. (20, p413)

En caso de la bacteria *E. faecalis* bajo una concentración de 1 % de NaClO se requieren aproximadamente 20 minutos para eliminarla. Por otra parte, toma menos de 30 segundos si se emplea una concentración de 5,25 %. (20, p413)

Altas concentraciones de NaClO permiten disolver tejido necrótico y pulpas vitales; no obstante, aumentan el riesgo de dañar otros tejidos como los periapicales y la mucosa de la cavidad bucodental. Por esta razón, no se recomienda usar un porcentaje mayor al 1 % sin un dique de hule. (20, p413)

De acuerdo con Kovac, en la investigación de Baumgartner y Cuenin por medio de un microscopio electrónico se examinó la superficie endodóntica tratada a diferentes concentraciones de NaClO, se encontró que a todas las concentraciones la remoción de detritus fue efectiva. Sin embargo, el NaClO no fue capaz de remover desechos ubicados en las capas más profundas. (20, p413)

Cuando se compara el NaClO con otros agentes desinfectantes, es definitivo que tiene una mejor compatibilidad biológica. Sin embargo, no se recomienda utilizarlo con peróxido de hidrógeno durante la irrigación del canal porque puede causar una reacción química masiva la cual produce una liberación de oxígeno y puede causar enfisema. (20, p413)

El NaClO disuelve solo la parte orgánica, pero no la remueve completamente. La reacción con partículas orgánicas de la pared dentinal dentro del conducto radicular se denomina “efecto jabón,” el cual muestra que el hipoclorito de sodio es una base y disuelve proteínas. Este efecto aumenta la

efectividad de la endodoncia, disminuye el riesgo del fracaso y es un atributo que no puede ser asignado a ningún otro agente irrigante. Contribuye al aumento de la efectividad del tratamiento de conductos, disminuyendo, además el riesgo de un accidente. (20, p413)

Por otra parte, dentro de las desventajas que posee el NaClO se destaca la posibilidad de un potencial accidente de éste al producirse una filtración a través del ápex, lo que ocasiona mucho dolor y edema. (20, p413)

2.10. Plantas medicinales

Existen sectores de la población de los países en desarrollo que dependen de profesionales tradicionales, plantas medicinales y medicamentos herbarios para su atención primaria. Incluso el interés del público en las terapias naturales ha aumentado enormemente en los países industrializados. (23, p7)

A pesar que los medicamentos herbarios se han usado durante muchos siglos, solo una cantidad relativamente pequeña de especies de plantas se ha estudiado para las posibles aplicaciones médicas. No obstante, las muchas y diversas formas de los productos medicinales tradicionales han evolucionado con el paso del tiempo. (23, p8)

2.11. Ciprés

2.11.1. Generalidades

Clasificación taxonómica:

- Reino: *Plantae*
- Orden: *Coniferae*
- Familia: *Cupressaceae*
- Nombre científico: *Cupressus lusitanica Mill, Cupressus empervirens*.
- Nombre popular: ciprés, ciprés de Goa, ciprés mexicano, pino, cedro de Goa, cedro blanco.

2.11.2. Descripción morfológica

Es de origen asiático y se ha extendido a Europa y América desde el sur de México hasta el norte de Nicaragua. Se cultiva en todas las islas, en las cercanías o dentro de cementerios, en jardines y plazas. (24, p231)

El ciprés constituye una planta exótica de rápido crecimiento, en las zonas altas (1500 - 3000 msnm) del Valle Central de Costa Rica, en forma de cortinas

rompe-vientos (24, p231). Es un árbol que ronda una altura de 15 a 20 metros, de tronco erguido, pues crece recto y empinado, frondoso; el tallo es leñoso, sus hojas son muy pequeñas y se disponen como escamas, pareciendo la continuación del tallo más fino y de color verde oscuro. (24, p231)

Posee como estructuras reproductivas flores masculinas y femeninas en el mismo árbol. Las femeninas se desarrollan en las axilas de las ramas y son en forma de globo y grandes. Los frutos femeninos son gálbulos globulosos poliédricos que al madurar son leñosos y están endurecidos. Las hojas son muy olorosas por sus aceites esenciales. (24, p231)

2.11.3. Composición química

Los principios activos son sustancias que se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas, los cuales modifican el funcionamiento de órganos y sistemas en el cuerpo humano. La investigación científica ha permitido descubrir una variada gama de principios activos de los cuales los más importantes desde el punto de vista de salud son los aceites esenciales, los alcaloides, los glucósidos o heterósidos, los mucílagos, las gomas y los taninos. (23, p12)

De acuerdo con López, del ciprés se utilizan los gálbulos o frutos, en menor medida las hojas y brotes tiernos para extraer su esencia. Según las partes utilizadas es posible obtener productos en mayor o menor cantidad, de tal forma que (23, p 14):

- De los gálbulos se extrae el aceite esencial que contiene alfa y beta pineno, canfeno, candineno, cedrol (alcanfor de ciprés), taninos catéquicos o proantocianidinas y ácidos diterpénicos.
- En los brotes tiernos se encuentran el aceite esencial y las biflavonas.
- De las hojas se obtienen los pigmentos amarillos derivados de la fenilbenzo y pirona o fenilcromona, llamados flavonoides, tales como la amentoflavona y la cupresoflavona.

Los flavonoides se dan mucho en el reino vegetal, normalmente en forma de heterósidos. Son una estructura molecular del tipo C6 - C3 - C6. Constituyen una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua. Existen 6 clases principales de flavonoides: las chalconas, las flavonas, los flavonoles, las antocianidinas, los taninos condensados, las xantona y las auronas. (23, p 14)

2.11.4. Propiedades e indicaciones terapéuticas

Tradicionalmente, la planta ornamental del ciprés se ha utilizado como remedio, tanto en uso interno como externo, como tónico venoso en casos de várices y hemorroides. También, se ha usado por su acción balsámica respiratoria como antitusígeno y expectorante. (24, p231)

Según el contenido en principios activos o ensayos farmacológicos, la cantidad de taninos, su acción astringente y vasoconstrictora justifica los usos en casos de várices, úlceras varicosas, hemorroides y metrorragias durante la menopausia. Los flavonoides tienen, además capacidad antiinflamatoria. El aceite esencial es el portador de la actividad balsámica, antitusígena y expectorante, también posee propiedades rubefacientes útiles en aplicación local como antirreumático. (24, p231)

2.12. Tomillo

2.12.1. Generalidades

Clasificación taxonómica:

- Reino: *Plantae*
- Orden: *Lamiales*
- Familia: *Lamiaceae*
- Género: *Thymus*
- Especie: *Thymus vulgaris*
- Nombre científico: *Thymus vulgaris* L.
- Nombre comercial: tomillo.

2.12.2. Descripción morfológica

El tomillo pertenece a la familia de las labiadas, alcanza de 15 a 30 centímetros de altura, muestra hojas opuestas, lanceoladas, con los bordes enrollados y son densamente pilosas. Las flores del tomillo son diminutas, agrupadas en racimos terminales muy densos, rosados o blanquecinos. Cáliz de color rojizo vinoso, con la garganta obstruida por pelitos blancos.

El labio superior muestra tres dientecitos cortos, y el inferior dos largas y estrechas lacinias. La corola mide entre 7 y 8 mm y aparece dividida en dos labios: el superior escotado y el inferior subdividido en tres lóbulos divergentes. Toda la planta desprende un fuerte aroma al estar provista de glándulas esenciales; existiendo numerosas variedades como el tomillo salsero o blanco, el tomillo

mejorado o el tomillo de Foscos. Primordialmente se recolectan como plantas medicinales el *Thymus vulgaris* L. y el tomillo salsero o blanco. (22, p1)

2.12.3. Composición química

El tomillo contiene los ácidos oleico, palmítico, nicótico, rosmarínico y linoleico. En las hojas se encuentra el ácido ascórbico. A lo largo de toda la planta es posible obtener los aceites esenciales (timol, anetol, borneol, carvacrol y cienol), aminoácidos (cistina, valina, glicina e isoleucina), metales y minerales (aluminio, calcio, cobalto, magnesio, hierro, manganeso), alcoholes (borneol y linalol), terpenos (terpinemo y cimeno), flavonoides (derivados de apigenol y luteolol); ácidos fenólicos (ácido cafeico, ácido rosmarínico); vitaminas B1 y C, taninos, saponinas, triperpenoides, entre otros. (25, p1)

2.12.4. Propiedades e indicaciones terapéuticas

El tomillo es espasmolítico ya que el timol y el carvacrol contenidos en el aceite esencial inhiben la disponibilidad del calcio. Además, tienen propiedades antitusígenas, antisépticas, antibacterianas antifúngicas, antivíricas, antihelmínticas. Gracias al aceite esencial es colagogo. Debido a los flavonoides es antirradicalar, digestivo, estimulante del apetito, cicatrizante, expectorante,

mucolítico, astringente suave, diaforético, tonificante, vulnerario, alivia laringitis, gastritis, diarrea, urinarios, hepáticos. (25, p2).

Se utiliza contra trastornos de garganta e infecciones bucales (antiséptico); regulariza y alivia trastornos menstruales, se emplea contra sarna y los piojos, y por último, es repelente de insectos. (25, p2)

El timol (iso-propil-meta-cresol) y carvacrol (iso-propil-orto-cresol) son los compuestos presentes en la esencia del *Thymus vulgaris L.* que proporcionan las propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antisépticas. (25, p2)

El extracto de tomillo es efectivo contra las bacterias: *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y numerosas bacterias anaerobias estrictas, supragingivales y subgingivales, causantes de la inflamación de las encías y, por tanto, de la aparición de enfermedades periodontales como gingivitis y periodontitis. (25, p3)

El tomillo desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas, precipita el citoplasma e interfiere con la función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular. (25, p3)

Se destaca por ser antiinflamatorio ya que actúa inhibiendo prostaglandinas, posee acción anticariogénica gracias a su amplio espectro de acción contra las bacterias Gram positivas y Gram negativas como *S. sanguis* y *S. sobrinus*. Además, es idóneo para combatir la halitosis debido a su acción antiséptica. (25, p3)

CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE TRABAJO

3.1. Extracción del aceite esencial de tomillo y ciprés

Existen diversas maneras para extraer el aceite esencial de una planta. Se puede obtener por métodos que pueden afectar, tanto el rendimiento como la composición de dicho aceite, en función del sistema de extracción empleado.

Para ambas plantas medicinales, empleadas en esta investigación, el método utilizado para la extracción de los aceites esenciales fue la destilación de arrastre con vapor de agua, que se realizó en el Laboratorio del Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA).

Según Pereda, el método de arrastre por vapor se efectúa mediante la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla al inyectar vapor de agua directamente. Se le da ese nombre debido a que la condensación forma una fase que no se puede combinar con la otra, la cual va a ceder su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. (26, p26)

A lo largo de la destilación se obtienen dos fases inmiscibles: una orgánica y otra acuosa. De tal forma, cada líquido de la mezcla se comporta de manera

individual como si el otro no estuviera presente, por lo tanto, cada uno ejerce su propia presión de vapor (26, p26).

De acuerdo con lo establecido por Pereda, en este método es requisito que el componente volátil y la impureza sean insolubles en agua, ya que el producto destilado (volátil) tomará dos fases al condensarse, lo cual permitirá la fácil separación del agua. (26, p26)

La temperatura a lo largo de la destilación se mantiene constante, no hay cambios en la presión de vapor ni en la composición de los vapores de la mezcla, es decir, el punto de ebullición permanece constante mientras ambos líquidos estén presentes en la fase líquida. (26, p26)

En la destilación por arrastre de vapor el destilado se mantiene puro en relación con el componente no volátil, aunque requiere de una decantación para ser separado del agua. (26, p26)

Por último, esta técnica aprovecha la propiedad que tienen las moléculas de agua en estado de vapor de asociarse con moléculas de aceite, de modo que la extracción se efectúa cuando el vapor de agua entra en contacto con el material vegetal y libera la esencia, para luego ser condensada. Esto con el fin de asegurar

una mayor superficie de contacto y exposición de las glándulas de aceite. (27, p12)

Las extracciones de los aceites esenciales de tomillo y de ciprés se realizaron mediante el siguiente procedimiento:

1. Adquisición del producto: se compró 1 kilo de tomillo en un supermercado perteneciente a la provincia de Cartago, Costa Rica, en el mes de julio del 2016; el producto se encontraba fresco. Las ramas de ciprés fueron tomadas el mismo mes de un árbol ubicado en el Residencial Los Gobernantes, La Uruca, San José. Las ramas se guardaron en una bolsa plástica y al día siguiente fueron llevadas al laboratorio del Centro de Investigaciones en Productos Naturales para efectuar su extracción.
2. Corte de las ramas: se procedió a cortar las ramas de tomillo y de ciprés, un día respectivo para cada planta. En el caso del ciprés, se cortaron varias ramas hasta completar el peso de 500 gramos. Para el tomillo se utilizaron 850 gramos.
3. Trituración: se procedió a la trituración de las ramas en una licuadora con 4 L de agua a máxima velocidad. Las plantas se trituraron por separado y se obtuvo una mezcla con agua de cada una.

4. Extracción: con la ayuda de un embudo plástico se colocó la mezcla en un balón. Una vez instalado todo el equipo, mediante un sistema de calentamiento con glicerina a 100 °C -120 °C se inició la extracción del aceite esencial. Este proceso tuvo una duración de alrededor de 4 horas y como resultado se obtuvieron 3 mL de aceite esencial de tomillo y 9 mL de aceite esencial de ciprés.
5. Obtención de las muestras: una vez obtenidos los extractos de aceite, se trasladaron a un vial para su almacenamiento, se rotularon y envolvieron en el mismo en papel aluminio. Posteriormente, se refrigeraron las muestras para evitar que la luz y la temperatura provocaran alguna alteración y conservarlas de mejor manera.

3.2. Pruebas *in vitro*

Una vez que los extractos estaban listos, se llevaron al Laboratorio Investigación de Bacteriología Anaerobia de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica para su análisis, donde fueron almacenados a 4 °C, envueltos en papel aluminio.

Se realizaron diluciones seriadas dobles de cada uno de los extractos: $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{32}$ y $\frac{1}{64}$ de concentración. Asimismo, se probaron los controles de agua e hipoclorito de sodio al 5 %.

3.3. Ensayo de actividad antibacteriana

Las bacterias empleadas fueron *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *P. anaerobius*. Estas fueron aisladas de cavidad oral y en el momento de la investigación se encontraban dentro de las especies que conserva bacterioteca del Laboratorio Investigación de Bacteriología Anaerobia de la Facultad de Microbiología de la UCR.

Con el fin de utilizar la misma cantidad de bacterias en cada uno de los ensayos, se prepararon suspensiones de cada tipo de microorganismo empleado una turbiedad equivalente al estándar 1 de McFarland (corresponde a 3×10^8 bacterias). Este estándar corresponde a una mezcla de cloruro de bario y ácido sulfúrico.

Dichas suspensiones se rayaron en tres direcciones en placas agar sangre suplementado con hemina y vitamina K, de manera que se formaran monocapas después de la incubación. Posteriormente, se le realizaron hoyos con un diámetro

de 7 mm en las placas de agar sangre, a los cuales se les añadió 40 microlitros de las diferentes sustancias puras y las respectivas diluciones.

Al colocar las soluciones en las placas se colocaron de la siguiente manera: en una placa se colocó agua y NaClO como controles y el extracto en forma pura de ambas plantas y en otra placa se colocaron las disoluciones desde $\frac{1}{2}$ hasta $\frac{1}{64}$ de las respectivas bacterias.

Inicialmente, las bacterias fueron almacenadas a una temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se retiraron del congelador para ser incubadas en cámara de anaerobiosis por 48 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$. La atmósfera de la cámara tenía un 90 % de nitrógeno, 5 % de dióxido de carbono y 5 % de hidrógeno.

Transcurrida la incubación se realizó la medición de los halos de inhibición en milímetros, formados en la monocapa de crecimiento bacteriano por efecto de las diferentes sustancias evaluadas. Posteriormente, se compararon estos halos contra el diámetro del halo de inhibición presentado por los controles de agua y NaClO.

El resultado se consideró positivo ante la presencia de un halo de inhibición de crecimiento de las bacterias alrededor de los pozos de la sustancia a prueba, esta distancia se midió para determinar el diámetro del halo producido por cada

sustancia. Con los resultados solo fue posible determinar si el extracto estudiado presentó o no una actividad antiséptica mayor o menor a la de las sustancias control.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1. Resultados

En las pruebas efectuadas en el cultivo de cepas de *Prevotella intermedia* (ver Gráfico 1) se puede observar que en concentración pura el hipoclorito de sodio al 5 % es la sustancia que desarrolló el mayor halo inhibitorio con 22 mm. Al 50 % de dilución el ciprés produjo un halo inhibitorio de 5 mm y el tomillo no generó ningún halo. A una concentración del 25 % el tomillo produjo un halo inhibitorio de 3 mm, pero el ciprés no formó ningún halo a esta misma concentración.

Si se compara la efectividad de las sustancias, se puede observar cómo el hipoclorito de sodio posee mayor acción para inhibir las cepas de *P. intermedia*, seguido por el aceite de ciprés que incluso a una dilución del 3 % mostró un halo inhibitorio de 1 mm, y por último se ubica lo generado por el aceite de tomillo.

Al realizar pruebas sobre cultivos de la bacteria anaerobia *Peptoestreptococcus anaerobius* (ver Gráfico 2) utilizando los extractos de tomillo y de ciprés y como controles el hipoclorito de sodio al 5 % y el agua, los resultados obtenidos mostraron que en la dilución del 50 % el comportamiento de la solución de NaClO presentó un halo inhibitorio de 13 mm, el de tomillo fue de 11 mm y el

de ciprés de 3 mm. En la dilución al 25 % se observó un halo inhibitorio de 2 mm para el extracto de ciprés.

En lo referente a las pruebas efectuadas sobre las cepas de *Fusobacterium nucleatum* (ver Gráfico 3) con los extractos de tomillo y ciprés, utilizando NaClO al 5 % y agua como sustancias control, se apreció que a una dilución de ½ el hipoclorito de sodio demostró un halo de inhibición de crecimiento de 7 mm, seguido del ciprés que a una concentración del 25 % presentó un halo inhibitorio de 1 mm. Cabe destacar que el tomillo no demostró halos inhibitorios de ningún tipo en las diferentes diluciones sobre el cultivo de estas bacterias en particular.

4.2. Conclusiones

Las bacterias anaerobias poseen una alta patogenicidad ya que son las responsables de provocar procesos infecciosos dentro los conductos radiculares, dado que producen enfermedades pulpares, tales como necrosis, periodontitis periapical, abscesos y pulpitis.

Se logró identificar las propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antisépticas de los extractos de tomillo y de ciprés que los hacen ser posibles candidatos para la irrigación durante los tratamientos de conductos radiculares.

Por medio de las pruebas *in vitro* se determinó que el extracto de *Thymus vulgaris* L. presentó halos de inhibición menores a los generados por el NaClO al 5 %. Lo mismo sucedió con las diferentes diluciones del aceite esencial de *Cupressus* que se probaron.

De tal forma, la efectividad de los extractos de ciprés y de tomillo es menor que la obtenida con el uso de hipoclorito de sodio, por lo cual estos no pueden sustituirlo como irrigante durante la preparación biomecánica para eliminar a los microorganismos anaerobios con los cuales se trabajó.

4.3. Discusión

Los aceites esenciales constituyen antimicrobianos económicos y efectivos que reducen (cuando actúan como bacteriostáticos) o eliminan la infección (al exhibir una función bactericida). En esta investigación, se demuestra que los extractos de aceites esenciales pueden ser una alternativa con potenciales efectos medicinales y son candidatos para terapias con diferentes tratamientos que pretendan el manejo de los padecimientos infecciosos, pues se han evidenciado las bondades que brindan tan solo algunos de sus muchos componentes, entre los más importantes el alfa pineno en el caso del ciprés, y el timol y carvacrol en lo referente al tomillo.

En la presente investigación, se trabajó con las bacterias anaerobias *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* y *Peptoestreptococcus anaerobius*, las cuales de forma independiente se sometieron a pruebas de halo inhibitorio utilizando extractos de aceite de tomillo y de ciprés, esto con el fin de probar su efectividad en cuanto a actividad antibacteriana y compararla con las sustancias controles que fueron NaClO al 5 % y agua.

Se tomaron en cuenta estos tres tipos de bacteria ya que sus bioproductos por sí solos son capaces de causar patosis perirradicular. Según Walton et al., las bacterias en el canal infectado juegan un papel importante en el progreso de la lesión periapical, esto debido a sus efectos citotóxicos. (28, p40)

Takehashi et al. analizaron los efectos de la microbiota oral normal en la monoinfección en la pulpa y de los tejidos perirradiculares, los cuales estaban directamente relacionadas con la cantidad de microorganismos existentes en los canales radiculares y con el tiempo en que estos tejidos estuvieron expuestos a los microorganismos. (28, p40)

Tomando en cuenta los resultados de diferentes estudios, las infecciones del conducto radicular son multibacterianas. Los organismos anaeróbicos desempeñan un papel importante en los signos clínicos y en los síntomas de las enfermedades pulpares y periapicales. (29, p40)

En esta investigación, el extracto de ciprés mostró una efectividad mínima comparada con el hipoclorito de sodio al 5 %. No obstante, el tomillo demostró efecto inhibitorio contra *P. anaerobius* (Gram positivo) y *P. intermedia* (Gram negativo), sin embargo, el halo es menor que el presentado por el extracto de ciprés. Ambos extractos no tuvieron efectividad en presencia de la *F. nucleatum* (Gram negativo).

De acuerdo con el estudio de Cheraif et al., de todas las partes que componen el ciprés es en los conos y en las hojas de donde más aceite esencial se obtiene (1,1 % y 1,21 % respectivamente), luego le siguen las ramas (0,85 %) y el componente de mayor obtención es el alfa pineno (20 %) seguido de otros derivados. (29, p818)

El ciprés en gran parte le debe su actividad antimicrobiana al alfa pineno que actúa contra bacterias Gram positivas, tales como *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, y *S pneumoniae*. También, ejerce su efecto contra bacterias Gram negativas como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. typhimorium*, entre otras. Existen otros componentes que aportan a esta acción como derivados de tujona, delta 3 careno, cismuurola y 5 dieno. Estos compuestos también son responsables del aroma característico de este tipo de plantas. (29, p815)

Según Nissen et al., el uso de aceites esenciales contra el crecimiento microbiano, en especial para combatir oportunistas y microorganismos patógenos, se convierte en una buena alternativa antibacteriana que se puede tener presente, incluso en casos de resistencia antibiótica. Claro está que se necesitan más estudios de respaldo. (30, p418)

El compuesto alfa pineno es uno de las mayores partes de la clase monoterpenos. Está presente en los aceites de muchas especies de coníferas. En el estudio propuesto por Nissen et al., en los canamos como carmagbola, fibranova y futura se evidencia la actividad inhibitoria ante el crecimiento microbiano por parte del alfa pineno, principalmente, contra bacterias Gram positivas, y también contra Gram negativos e inclusive levaduras. (30, p415)

El estudio anteriormente mencionado indicó que el alfa pineno inhibió de manera completa el crecimiento de las bacterias Gram positivas de las familias de patógenos oportunistas como clostridios, enterococos y estreptococos. (30, p417)

Aumeeruddy - Elalfi et al., examinaron 6 patógenos sometiendo a 10 plantas, incluida la especie *Cupressus macrocarpa*, a pruebas de actividad antimicrobiana. El ciprés obtuvo los mayores diámetros de zona de inhibición en relación con las otras 9 plantas. (31, p90)

Además, en cuanto a la actividad antimicrobiana se determinó a través del estudio realizado que el ciprés también exhibe acción bactericida atribuida a los aceites esenciales. Se experimentó con bacterias Gram positivas y negativas, tales como *E. coli*, *P. acnes*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Acinetobacter*, *E. faecalis*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris* y *S. peroris* (31, p91). El extracto de aceite de *Cupressus macrocarpa* contiene un 63,2 % de alfa pineno, de ahí su gran característica bactericida. (31, p94)

En cuanto a la acción antimicrobiana del tomillo, se logró determinar el halo inhibitorio en presencia de las bacterias *Prevotella intermedia* y *Fusobacterium nucleatum*. Cabe mencionar que la *P. intermedia* ha sido reportada como la especie de bacteroides más comúnmente aislada de conductos radiculares infectados. (28, p40)

Según Zambrano et al., los componentes timol y carvacrol permiten una acción antibacteriana frente a Gram positivos y Gram negativos, ya que estos componentes actúan sobre la membrana bacteriana y fúngica. (32, p12)

De la composición química del tomillo, el aceite esencial constituye aproximadamente del 1 al 2,5 % de los componentes totales de la planta. Resaltan como elementos principales del aceite los fenoles monoterpénicos como timol en

aproximadamente hasta un 70 %, carvacrol (cerca del 35 %) y otros componentes minoritarios como el p-cimeno, borneol y linalol. (32, p11)

La esencia de tomillo resulta ser un antiséptico con mayor acción cuando se le compara con el fenol y el agua oxigenada. Dicha propiedad se evidenció a mediados del siglo XIX, cuando se desconocían los antibióticos y el tomillo era considerado un fuerte desinfectante. (32, p12)

Zambrano et al., mencionan que el ácido rosmarínico también actúa bloqueando la acción del complemento, lo cual inhibe los procesos de inflamación. Presenta actividad antioxidante, donde actúan el timol y el carvacrol de la esencia, al igual que otros componentes minoritarios como flavonoides y otros polifenoles. (32, p13)

El estudio mencionado por Zambrano et al. evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* del tomillo frente a *Porphyromonas gingivalis* y se logró demostrar la propiedad antibacteriana frente a este microorganismo. (32, p57)

4.4 Recomendaciones

Efectuar más análisis fitoterapéuticos en el campo odontológico, para así contribuir con el bienestar de la salud bucodental de la población costarricense mediante la aplicación de la medicina natural.

Utilizar diferentes partes de las plantas para obtener aceites esenciales, realizar nuevas pruebas *in vitro* y considerar otros métodos de extracción.

Elaborar otros estudios con los extractos de tomillo y de ciprés para determinar a qué concentración se alcanza un efecto antimicrobiano frente a otros microorganismos patógenos de importancia presentes en la microbiota bucodental.

Realizar otras investigaciones de los extractos sobre diferentes cepas de microorganismos causantes de diversas patologías endodónticas.

Comprobar si los extractos de los aceites esenciales de tomillo y de ciprés pueden actuar en los túbulos dentinales, establecer cuál debe ser la concentración óptima por utilizar en los procedimientos y evaluar la facilidad de eliminación de los conductos antes de obturar, así como su reacción con los demás materiales de obturación.

CAPÍTULO 5. PARTE FINAL

5.1. Cronograma de actividades

Número de Sesión	Fecha	Temas por Desarrollar
Semana	10 al 14 marzo	<p>Entrega y lectura del programa de curso. Motivación para la investigación. Objetivos de este Seminario de Graduación. Asignación deberes. Inducción al uso de Mediación Virtual. El cuaderno de bitácora como registro de la experiencia de investigación: agendas de trabajo, avances en reuniones, ficheros bibliográficos, anotaciones, los obstáculos, las dificultades y los factores facilitadores de las actividades. El resguardo de las copias de información: el disco duro externo, la llave maya y la red internet (correos electrónicos y contenedores). Word y Excel: trucos y secretos en el procesador de texto y la base de datos. ESQUEMA PARA EL PLAN DE TRABAJO DE LA INVESTIGACIÓN: resultados esperados-actividades-aspectos a considerar-duración-fecha de inicio-fecha de terminación-responsable-recursos. Importancia de la planificación del trabajo investigativo: lo previsto e imprevisto. El diagrama de Gantt en la planificación de proyectos: tareas (predecesora, sucesora, resumen), trabajo, duración, hito, calendario, simbología (tarea, división, progreso, hito, resumen, tarea resumida, división resumida, hito resumido, progreso resumido, resumen del proyecto) Herramientas para la elaboración del diagrama de Gantt: Excel y Open Project.</p>

		<p>Tareas</p> <p>1. Creación del diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación (2 días). 2. Elaboración de un documento/folleto/tríptico explicando cómo se construyen las referencias bibliográficas siguiendo los formatos de la American Psychological Association (consultar en línea) y el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (consultar en revista Odovtos). Incluir: generalidades, libros (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, edición revisada), revistas (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, sin volumen, en prensa), periódicos (con autor, sin autor, periódico mensual), entrevista personal, enciclopedia o diccionario, artículo de enciclopedia, tesis y disertaciones, filme, medio (cintas de video, cintas de audio, diapositivas, gráficas, trabajos artísticos, grabación de casete), información en la red, medios electrónicos (correspondencia electrónica, mensajes electrónicos, listas de discusión, CD-ROM, cinta de datos electrónica, cinta en cartucho y programa de computadora).</p> <p>3. Elaboración de un folleto o tríptico con las reglas para insertar referencias bibliográficas en un documento y el uso correcto de las abreviaturas relacionadas con la técnica de referencia.</p> <p>4. Realizar las lecturas:</p> <ul style="list-style-type: none"> * ¿Qué es la Odontología basada en evidencia? * Cuestionamientos bioéticos en odontología. * Bioética e investigación en odontología. * Equipo de salud: el trabajo multidisciplinario en investigaciones del área de la salud
Semana	10 al 14 marzo	<p>Entrega y lectura del programa de curso. Motivación para la investigación. Objetivos de este Seminario de Graduación. Asignación deberes. Inducción al uso de Mediación Virtual. El cuaderno de bitácora como registro de la experiencia de investigación: agendas de trabajo, avances en reuniones, ficheros bibliográficos,</p>

		<p>anotaciones, los obstáculos, las dificultades y los factores facilitadores de las actividades.</p> <p>El resguardo de las copias de información: el disco duro externo, la llave maya y la red internet (correos electrónicos y contenedores).</p> <p>Word y Excel: trucos y secretos en el procesador de texto y la base de datos.</p> <p>ESQUEMA PARA EL PLAN DE TRABAJO DE LA INVESTIGACIÓN: resultados esperados-actividades-aspectos a considerar-duración-fecha de inicio-fecha de terminación-responsable-recursos.</p> <p>Importancia de la planificación del trabajo investigativo: lo previsto e imprevisto.</p> <p>El diagrama de Gantt en la planificación de proyectos: tareas (predecesora, sucesora, resumen), trabajo, duración, hito, calendario, simbología (tarea, división, progreso, hito, resumen, tarea resumida, división resumida, hito resumido, progreso resumido, resumen del proyecto)</p> <p>Herramientas para la elaboración del diagrama de Gantt: Excel y Open Project.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Creación del diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación (2 días). 2. Elaboración de un documento/folleto/tríptico explicando cómo se construyen las referencias bibliográficas siguiendo los formatos de la American Psychological Association (consultar en línea) y el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (consultar en revista Odovtos). Incluir: generalidades, libros (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, edición revisada), revistas (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, sin volumen, en prensa), periódicos (con autor, sin autor, periódico mensual), entrevista personal, enciclopedia o diccionario, artículo de enciclopedia, tesis y disertaciones, filme, medio (cintas de video, cintas de audio, diapositivas, gráficas, trabajos artísticos, grabación de casete), información en la red, medios electrónicos (correspondencia electrónica,
--	--	---

		<p>mensajes electrónicos, listas de discusión, CD-ROM, cinta de datos electrónica, cinta en cartucho y programa de computadora).</p> <p>3. Elaboración de un folleto o tríptico con las reglas para insertar referencias bibliográficas en un documento y el uso correcto de las abreviaturas relacionadas con la técnica de referencia.</p> <p>4. Realizar las lecturas:</p> <ul style="list-style-type: none"> * ¿Qué es la Odontología basada en evidencia? * Cuestionamientos bioéticos en odontología. * Bioética e investigación en odontología. * Equipo de salud: el trabajo multidisciplinario en investigaciones del área de la salud
Semana	17 al 21 marzo	<p>TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN</p> <p><u>I. PARTE INTRODUCTORIA</u></p> <p>JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN (propósitos, aplicabilidad).</p> <p>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA (justificación científica).</p> <p>USO DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN (propósitos, aplicabilidad).</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Entrega del diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación a las profesoras (3 días) 2. Elaboración del título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación. (3 días)
Semana	24 al 28 marzo	<p>Exposición de la información relacionada a las indicaciones para la construcción e inserción de referencias bibliográficas y uso de abreviaturas. Discusión de las lecturas asignadas el 09 de marzo.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones al diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación a las profesoras (2 días) 2. Entrega de la elaboración del título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación a las profesoras. (2 días)

Semana	31 de marzo al 4 de abril	<p>FUNDAMENTO TEÓRICO/ANTECEDENTES SOBRE EL TEMA (argumentación, respuestas posibles, hipótesis). Detalles a considerar durante la revisión bibliográfica: reconocimiento de fuentes confiables, uso de los servicios del sistema de bibliotecas y manejo correcto de los motores de búsqueda por internet.</p> <p>OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN (general y específicos) Cómo se estructuran los objetivos de investigación: el qué, el cómo y el para qué.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Corrección al título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación (2 días). 2. Elaboración del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema y de los objetivos de la investigación (2 semanas)
Semana	7 al 11 de abril	<p>Importancia del registro fotográfico y de video en el proceso de investigación. Manejo de los insumos, creación y gestión de carpetas: doc., img., sonido, video: numeración, orden, omisión de caracteres especiales.</p> <p>Tarea</p> <p>Entrega del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (I parte) y de los objetivos de la investigación a las profesoras (2 días).</p>
Semana	14 al 18 de abril	<p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones al fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (I parte) y de los objetivos de la investigación (2 días). 2. Entrega del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (II parte) a las profesoras (2 días).
Semana	21 al 25 de abril	<p>Elementos de la Guía OPS para escribir un protocolo/una propuesta de investigación.</p> <p><u>II. MÉTODOS DEL TRABAJO</u></p> <p>Definición operacional de las variables: objetivo específico-temas por desarrollar-variable-definición</p>

		<p>conceptual-definición operacional-definición instrumental-escala de medición-variable por tipo de categoría-tipo de variable. Tipo de estudio. Diseño general del estudio. Universo de estudio. Selección y tamaño de la muestra: técnicas de muestreo. Unidad de análisis. Unidad de observación. Criterios de inclusión. Criterios de exclusión. Procedimientos para la recolección de información. Instrumentos a utilizar en la recolección de la información: definición y diseño. Métodos para el control y la calidad de los datos. Establecimiento de protocolos para procedimientos con las sustancias naturales y los cultivos de microorganismos. Calibración práctica. Materiales usados en el levantamiento de los datos. Procedimientos para garantizar aspectos éticos en la investigación.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones al fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (II parte) (2 días). 2. Lectura tipos de estudio y diseño de las investigaciones en salud BUSCAR Y ESCANEAR EN LA PARTE DE ESTADÍSTICA Y EPIDEMIOLOGÍA. 3. Elaboración de la II. MÉTODOS DE TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación (1 semana)
Semana	28 de abril al 2 de mayo	Tarea Entrega de la II. MÉTODOS DE TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación a las profesoras (3 días)
Semana	5 al 9 de mayo	Importancia, utilidad y características de los gráficos y las tablas: tipos, usos y formatos apropiados.

		<p>PLAN DE ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS Métodos de análisis de los datos, según tipo de variable. Modelos de análisis de los datos, según tipo de variable. Tareas 1. Correcciones a la II. MÉTODOS DE TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación (2 días). 2. Definición de los métodos y modelos estadísticos para el análisis de datos, según el tipo de variable, diseño de tablas y gráficos para la presentación de la información (2 días).</p>
Semana	12 al 16 de mayo	<p>Tarea Entrega de la definición de los métodos y modelos estadísticos para el análisis de datos, según el tipo de variable, diseño de tablas y gráficos para la presentación de la información a las profesoras (3 días)</p>
Semana	19 al 23 de mayo	<p>Herramientas para la creación de bases de datos y análisis de los insumos: EpiInfo 7, Excel, FileMaker u otros El manejo correcto de la base de datos: la importancia en la definición de las características de cada grupo de datos para la codificación y el valor de cada registro. Tareas 1. Correcciones al diseño de tablas y gráficos para el análisis de la información (2 días) 2. Construcción de la matriz para base de datos (1.5 semanas)</p>
Semana	26 al 30 de mayo	<p>Tarea Entrega de la matriz para base de datos a las profesoras (3 días)</p>
Semana	2 al 6 de junio	<p>Tarea Correcciones a la matriz para la base de datos (2 días)</p>

Semana	9 al 13 de junio	LEVANTAMIENTO DE DATOS Tareas (4 semanas) Obtención de las sustancias naturales. Traslado de las sustancias naturales. Obtención de las muestras microbiológicas. Preparación de cultivos microbiológicos.
Semana	16 al 20 de junio	Tarea Aplicación de las sustancias naturales en los cultivos microbiológicos (1 semana)
Semana	23 al 26 junio	Tarea Obtención de datos (4 semanas)
Semana	30 de junio al 4 de julio	Tareas (1 semana) 1. CODIFICACIÓN DE DATOS 2. TABULACIÓN DE DATOS
Sesión	7 al 11 de julio	Tarea PROCESAMIENTO DE DATOS (2 semanas)
Semana	14 al 18 de julio	III. DESARROLLO ANÁLISIS DE RESULTADOS CONCLUSIONES (deben ser concordantes con lo planteado en el objetivo general y los objetivos específicos de la investigación). RECOMENDACIONES Tarea Elaboración de la III. DESARROLLO de la Memoria del Seminario de Investigación (3 semanas)
Semana	21 al 25 de julio	IV. PARTE FINAL CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES DEL SEMINARIO: fecha-actividad-recursos-responsables-evaluación del Director(a)-evaluación del grupo. FACTORES FACILITADORES/OBSTÁCULOS Y DIFICULTADES BITÁCORA (experiencia personal de acuerdo con el Seminario). GLOSARIO (optativo). BIBLIOGRAFÍA (igual que la revista Odovtos). ANEXOS/APÉNDICES (protocolos, instrumentos)

		<p>de recolección de la información, ampliación de métodos y procedimientos, diseño de tablas y gráficos, etc.). Anexos y apéndices ¿cuál es realmente la diferencia? RESUMEN DE LA INVESTIGACIÓN</p>
		<p>Buenas prácticas para la: * Elaboración de índices (general, de ilustraciones, de cuadros, de abreviaturas). * Redacción de derechos de propiedad intelectual de la Memoria del Seminario de Graduación. * Redacción de los reconocimientos.</p>
		<p>Tareas 1. Elaboración de la IV PARTE FINAL de la Memoria del Seminario de Investigación (1 semana)</p>
		<p>2. ELABORACIÓN DEL PRIMER BORRADOR DE LA MEMORIA DEL SEMINARIO (según el Formato Memoria de Seminarios 2012 del Programa Macro de Investigación) (1 semana)</p>
Semana	4 de noviembre	Tarea ENTREGA DEL BORRADOR DE LA MEMORIA
Semana	7 al 18 de noviembre	DEVOLUCIÓN PARA CORRECCIONES
Semana	25 de noviembre	EXHIBICIÓN DE PÓSTERES EN LOS PASILLOS DE LA FACULTAD
Semana	28 de noviembre	Tarea ENTREGA DE CD Y MEMORIA EMPASTADA

Semana	5 de diciembre	EXPOSICIÓN DE LOS TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN (de 8 a 12 md)
Semana	6 de diciembre	EXPOSICIÓN DE LOS TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN (de 1 a 4 pm)
Semana	17 de enero 2017	ENTREGA DE LOS CERTIFICADOS DE PARTICIPACIÓN. Ciudad de la investigación

5.2 Factores Facilitadores / Obstáculos y dificultades

Dentro de los factores facilitadores se encuentra el hallazgo de una mayor cantidad de artículos disponibles sobre el aceite esencial de tomillo, además de una gran colaboración por parte de los docentes encargados, el personal de CIPRONA y el Departamento de Bacteriología de la Universidad de Costa Rica.

Como parte de las dificultades que se presentaron durante la investigación fueron una cantidad mínima de información y poco acceso a los estudios acerca del aceite esencial de ciprés y de otros estudios realizados con bacterias anaerobias y los aceites esenciales aplicados en cavidad oral.

Los primeros resultados obtenidos por el aceite esencial de tomillo debieron repetirse, esto debido a que no se presentaron halos de inhibición. Asimismo, se debió repetir la extracción del aceite esencial de ciprés, ya que el vial que contenía el extracto se quebró.

5.3. Bitácora

FECHA	ACTIVIDAD
22 de mayo	Envío del primer avance del tomillo.
24 de mayo	Se recibe la primera revisión del marco teórico del tomillo por la Dra. Ballestero.
25 de mayo	Envío del primer avance del ciprés.
27 de mayo	Se recibe la primera revisión del marco teórico del ciprés
27 de mayo	Se recibe la primera revisión del marco teórico del tomillo por la Dra. Ballestero.
2 de junio	Se recibe la primera revisión del marco teórico del ciprés por la Dra. Madrigal.
5 junio	Se envía método a utilizar durante la extracción del aceite de tomillo.
6 junio	Se recibe revisión del método a utilizar durante la extracción del aceite de tomillo.
6 de junio	Envío del segundo avance del ciprés.
6 junio	Se envía correo a Dra. Gamboa para coordinar cita de extracción de aceite de tomillo.
7 de junio	Se recibe la segunda revisión del marco teórico por la Dra. Madrigal.
20 de junio	Se recibe la segunda revisión del marco teórico por la Dra. Ballestero
5 de julio	Envío de tercer avance
11 de julio	Se acude al CIPRONA, sin embargo, no se puede realizar extracción del ciprés hasta el día siguiente.

12 de julio	Se realiza extracción del aceite esencial de ciprés.
19 de julio	Se recibe tercera revisión de la Dra. Ballestero.
27 de julio	Solicitud de cita para prueba de extractos con bacterias.
28 julio	Se realiza extracción del aceite esencial de tomillo.
9 agosto	Reunión con doctora Gamboa para protocolo de trabajo.
17 de agosto	Se decide con cuáles bacterias anaerobias trabajar.
25 de agosto	Accidente con vial de extracto de ciprés.
29 de agosto	Segunda extracción de aceite de ciprés.
31 de agosto	Se dejan los extractos de ciprés y tomillo en el Laboratorio de Bacteriología, Facultad de Microbiología, UCR.
9 setiembre	Inoculación de bacterias.
6 de octubre	Envío de resultados de halos de crecimiento de bacterias anaerobias.
10 de octubre	Dudas por parte de la Dra. Ballestero en cuanto a unidades de los resultados.
11 de octubre	Aclaración de dudas por parte de la Dra. Gamboa y envío de las mismas a la Dra. Ballestero.
29 de octubre	Envío de avance sin conclusiones.
6 de noviembre	Se reciben correcciones.
1 noviembre	Se envía correcciones realizadas.
11 noviembre	Se envía correcciones realizadas sin incluir el índice.
13 noviembre	Se envía nuevas correcciones.

5.4. Referencias bibliográficas

1. Segovia A, Estrella C, Medina E, Maupomé G. Severidad de caries y factores asociados en preescolares de 3-6 años de edad en Campeche, México. Rev. salud pública [Internet]. 2005, Mar [citado el 30 Jun 2016];7(1):56-69. Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642005000100005

2. Montoro Y, Fernández ME, Vila D, Rodríguez A, Mesa DL. Urgencias estomatológicas por lesiones pulpares. Rev Cubana de Estomatol [Internet]. 2012 Dic [citado el 30 Jul 2016];49(4):286-294. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072012000400004
3. Juárez RP, Lucas NO. Complicaciones ocasionadas por la infiltración accidental con una solución de hipoclorito de sodio. Rev ADM [Internet]. 2001 [citado el 30 Jul 2016]; 58(5):173-176. Disponible en: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=5583>
4. Del Castillo G, Perea B, Labajo E, Santiago A, García F. Lesiones por hipoclorito sódico en la clínica odontológica: causas y recomendaciones de actuación. Cient Dent [Internet]. 2011 [citado el 30 Set 2016];8(1):71-79. Disponible en: http://www.coem.org.es/sites/default/files/publicaciones/CIENTIFICA_DENTAL/VOL8_NUM1/71-79.pdf
5. Cruz A, Vera J, Lara A, Briseño B, Betancourt E., editores. Endodoncia fundamentos científicos para la práctica clínica. México: Amateditorial; 2012.

6. Moreno A, Cañada A, Antúnez J, Díaz CI, Pineda AM. Uso de la fitoterapia en 3 clínicas estomatológicas de Santiago de Cuba. MEDISAN [Internet]. 2011 [citado el 30 Set 2016]; 15(4):489-494. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=368445229013>
7. Lamendin H. Plantas medicinales bucodentales hoy en día. Gaceta dental [Internet]. 2009 Mar [citado el 30 Jun 2016]; Disponible en: <http://www.gacetadental.com/2009/03/las-plantas-medicinales-buco-dentales-hoy-en-da-31293/>
8. Torres MA. Sustancias alternativas con acción antimicrobiana en la desinfección de preparaciones cavitarias [tesis]. [San José]: Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica; 2012. 150 p.
9. Alfaro D, Correa G, Rivas C. Sustancias alternativas con acción antibacteriana para la desinfección de cavidades [tesis]. [San José]: Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica; 2013. 115 p.
10. Fernández D, Ortiz C, Salguero MF. Agentes antimicrobianos alternativos de origen natural con acción inhibitoria de *S. mutans* como mecanismo de desinfección de las preparaciones cavitarias dentales [tesis]. [San José]: Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica; 2014. 110 p.

11. Díaz L, Montero W. Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de desinfectantes de cavidades a partir de macadamia (*Macadamia interfolia*) y tomillo (*Thymus vulgaris L.*) [tesis]. [San José]: Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica; 2015. 117 p.
12. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA., editores. Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología Médica. 26a ed. México: McGraw Hill; 2014. 880p.
13. Mollinedo Patzi MA, Gonzáles Villalobos C. Bacterias Gram Negativas. Rev Act Clín Med [Internet]. 2014 Nov [citado el 30 Jun 2016]; 49(1):2609-2613. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014001000005&script=sci_arttext
14. Rivas C, Mota M. Temas de Bacteriología y virología médica [Internet]. 2da ed. Montevideo: Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República; 2006. Capítulo 21 Bacterias anaerobias; [citado el 30 Set 2016]; [355-380p]. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteriasAnaerobias.pdf>
15. Guillarte C, Perrone M. Bacterias periodontopatógenas: bacilos anaerobios Gram negativos como agentes etiológicos de la enfermedad periodontal. Acta

Odontol Venez [Internet]. 2005 [citado el 30 Jul 2016]; 43(2). Disponible en:
http://www.actaodontologica.com/ediciones/2005/2/bacterias_periodontopatogenas_enfermedad_periodontal.asp

16. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS, editores. Microbiología Médica. 2a ed. España: Harcourt Brace; 1997. 602p.

17. Riggio MP, Lennon A. Development of a PCR assay specific for *Peptostreptococcus anaerobius* J. Med Microbiol [Internet]. 2002 [citado el 30 Set 2016];51(12):1097–1101. Disponible en:
<http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/51/12/mjm5112.1097.pdf?expires=1478829929&id=id&acname=guest&checksum=E5ED80C7CE4183D64462F5882EE545B3>

18. Álvarez C, Alvial L, Espinosa M, Fuentes D, Vallejos E. Origen y evolución de la enfermedad endodóntica [trabajo de investigación]. [Valparaíso]: Especialidad en Endodoncia, Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso; 2013. 32 p. Disponible en:
<http://www.postgradosodontologia.cl/endodoncia/images/EspecialidadEndodoncia/Seminarios/2013-2014/DocOrigenYEvolucionDeLaEnfermedadEndodontica.p>

19. Gobierno Federal de los Estados Unidos Mexicanos. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de las Infecciones Odontogénicas en Adultos en el Primer y Segundo Nivel de Atención, Guía Práctica Clínica: Consejo de Salubridad General (México); s.f. Catálogo maestro de guías de práctica clínica: ISSSTE-617-11. [citado el 30 Ago 2016]. Disponible en: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/517_GPC_Infeccionesodontogenicas/GPC_RR_PREV_DX_Y_TX_DE_INFECIONES_ODONTOGENICAS.pdf
20. Kovac J, Kovac D. Effect of irrigating solutions in endodontic therapy. Bratisl Lek Listy [Internet]. 2011 [citado el 30 Jun 2016];112(7):410-415. Disponible en: <http://bmj.fmed.uniba.sk/2011/11207-10.pdf>
21. Lindhe J, Lang N, Karring T, editores. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 5ta ed. España: Editorial Médica Panamericana; 2008, 1408 p.
22. Salinas YJ, Millán RE, León JC. Abscesos del periodonto: Conducta odontológica. Acta Odontol Venez [Internet]. 2008 [citado el 30 Jul 2016]; 46(3). Disponible en: http://www.actaodontologica.com/ediciones/2008/3/abscesos_periodonto.asp

23. López M. Manual de plantas medicinales para Guinea Ecuatorial [Internet]. 1ra ed. España: Fundación de Religiosos para la salud; 2012. 51 p. [citado el 30 Jul 2016]. Disponible en: http://www.academia.edu/6947967/MANUAL_DE_PLANTAS_MEDICINALES_PARA_GUINEA_ECUATORIAL
24. Cruz SJ. Más de 100 plantas medicinales [Internet]. 1ra ed. Las Palmas de Gran Canaria: Imprenta Pérez Galdós; 2007. 258 p. [citado el 30 Jul 2016]. Disponible en: <http://www.lacasadelvulcan.es/DOCUMENTOS/100PM.pdf>
25. Rovetto G, Moreno N, Bolívar V, Calvo S, Suárez G, Justiniano C, et al. Aplicaciones medicinales del tomillo. Universidad, Ciencia y Sociedad [Internet]. 2010 [citado el 30 Ago 2016];1(2):16-20. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S888888882010000100004&script=sci_arttext&tlng=en
26. Peredo HA, Palou E, López A. Aceites esenciales: método de extracción. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos [Internet]. 2009 [citado el 30 Ago 2016];3(1):24-32. Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)

27. Servicio Nacional de Aprendizaje. Introducción a la industria de los aceites esenciales extraídos de plantas medicinales y aromáticas. Bogotá: Centro de Gestión de Mercados, Logística y TIC's; 2012. [citado el 30 Oct 2016]. Disponible en: http://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/#http://biblioteca.sena.edu.co/coleccion/1.htm
28. Olarte AA, Microbiología endodóntica. Rev de la Facultad de Ciencias de Salud [Internet]. 2004 [citado el 30 Ago 2016];1(1):39-44. Disponible en: <http://revistas.unimagdalena.edu.co/index.php/duazary/article/viewFile/267/237>
29. Chéraif I, Jannet HB, Hammami M, Khouja M, Mighri Z. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cupressus arizonica* Greene. Biochem Syst Ecol [Internet]. 2007 [citado el 30 Ago 2016];35(12):813-820. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197807001111>
30. Nissen L, Zatta A, Stefanini I, Grandi S, Sgorbati B, Biavati B, et al. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). Fitoterapia [Internet]. 2010 [citado el 30 Ago

2016];81(5):413-419.

Disponible

en:

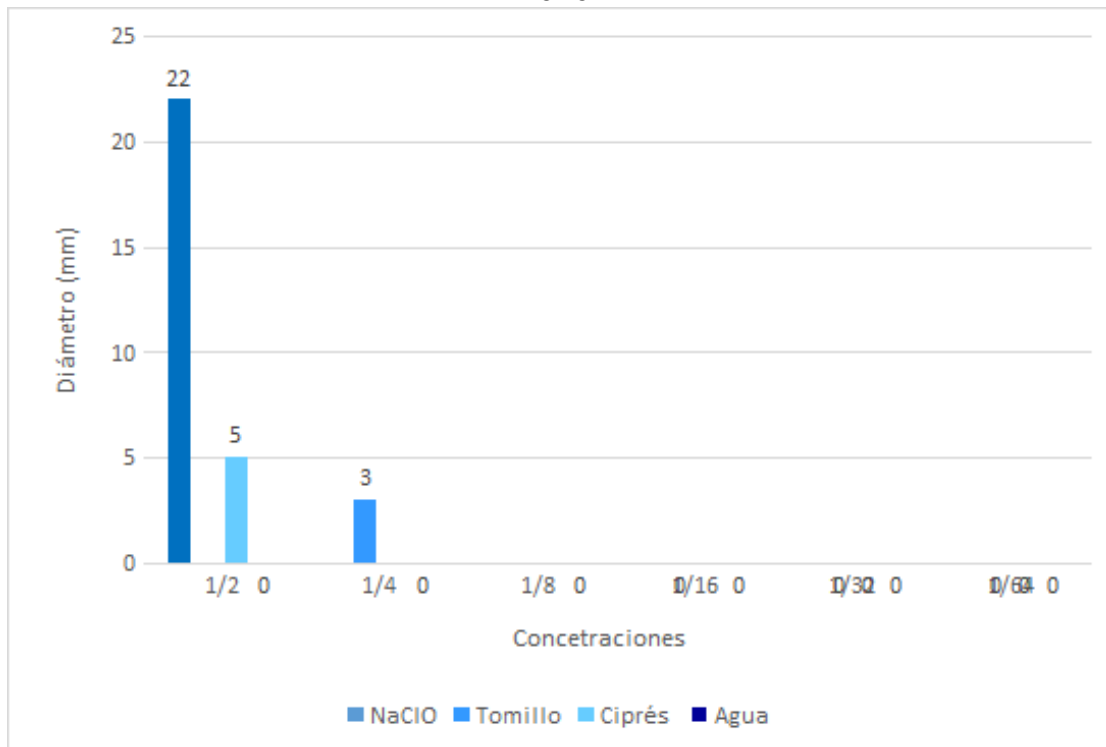
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19969046>

31. Aumeeruddy-Elalfi Z, Gurib-Fakim A, Fawzi M. Chemical composition, antimicrobial and antibiotic potentiating activity of essential oils from 10 tropical medicinal plants from Mauritius. *Journal of Herbal Medicine* [Internet]. 2016 Jun [citado el 30 Ago 2016]; 6(2):88-95. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210803316300057>

32. Zambrano MI, Inlago MI. Determinación de la actividad de la actividad antimicótica *in vitro* del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) en comparación con la nistatina y el gluconato de clorhexidina al 0,2% sobre cepas de *Candida albicans* [tesis]. [Quito]: Facultad de Odontología, Universidad Central de Ecuador; 2016. [consultado el 30 Oct 2016]. 91 p. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2801/3/T-UCE-0015-85.pdf>

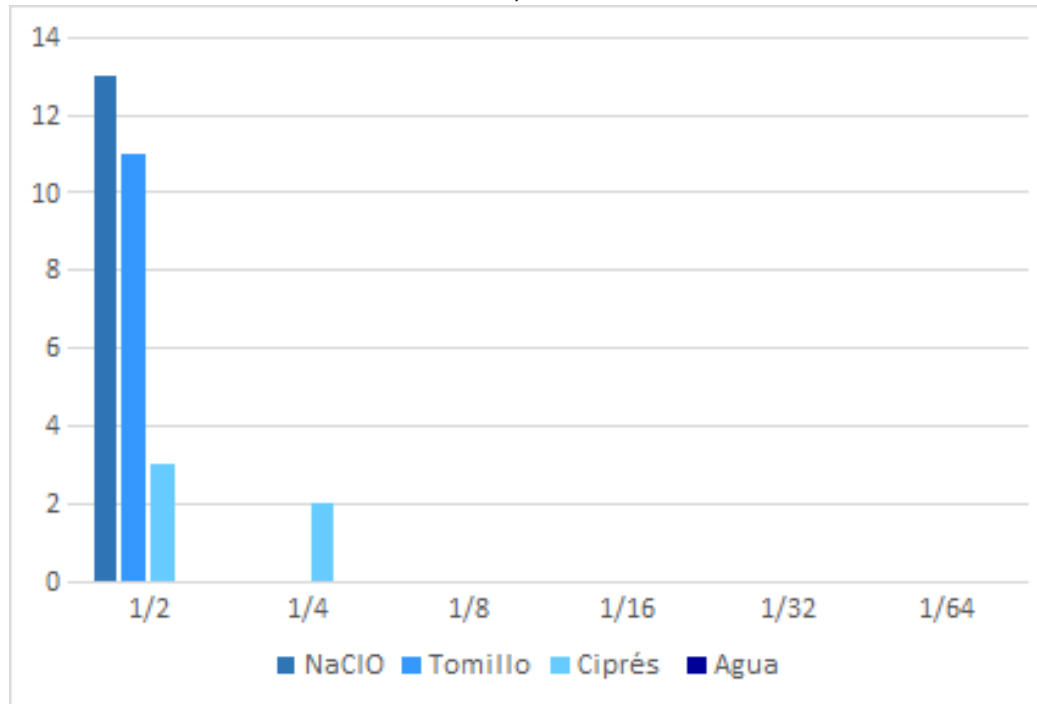
5.5 Apéndices

Gráfico 1. Halo de inhibición contra *Prevotella intermedia*, según las distintas concentraciones de extractos de tomillo y ciprés. San José, Costa Rica, 2016.



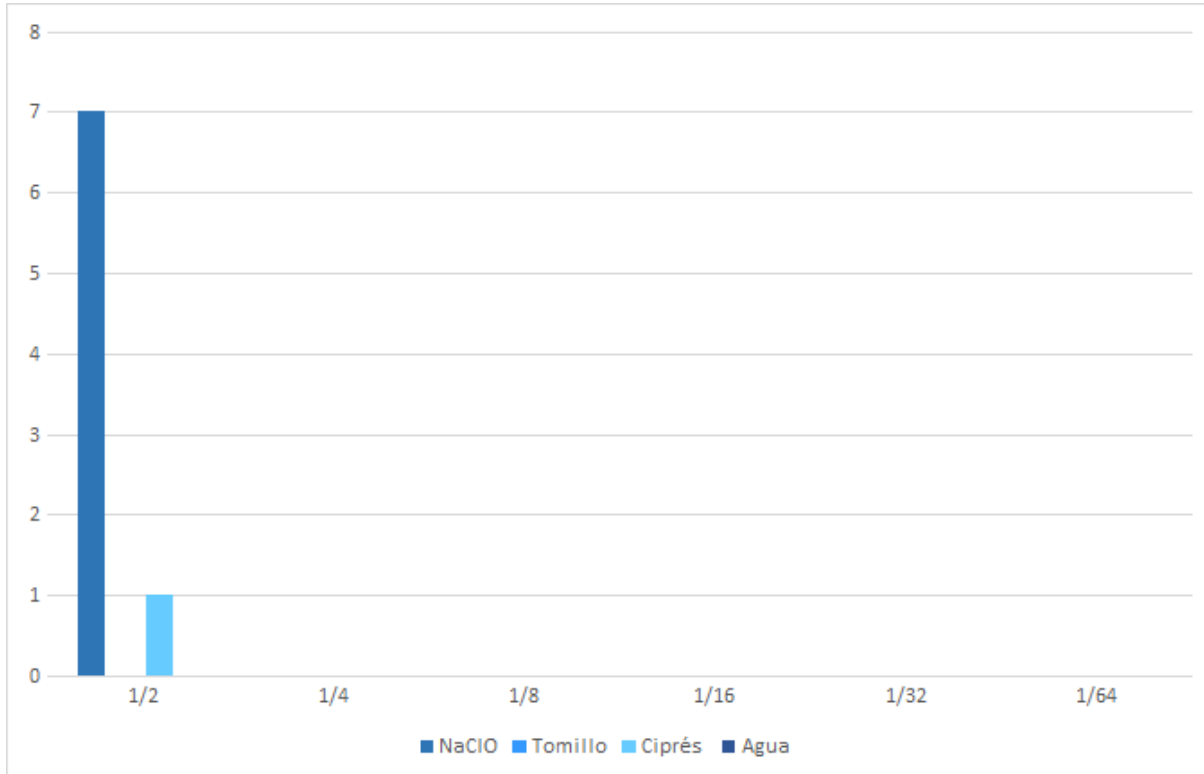
Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

Gráfico 2. Halo de inhibición contra *Peptostreptococcus anaerobius*, según las distintas concentraciones de extractos de tomillo y ciprés. San José, Costa Rica, 2016.



Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

Gráfico 3. Halo de inhibición contra *Fusobacterium nucleatum*, según las distintas concentraciones de extractos de tomillo y ciprés. San José, Costa Rica, 2016.



Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 1. 500 g de ramas de ciprés utilizado para la extracción del aceite.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

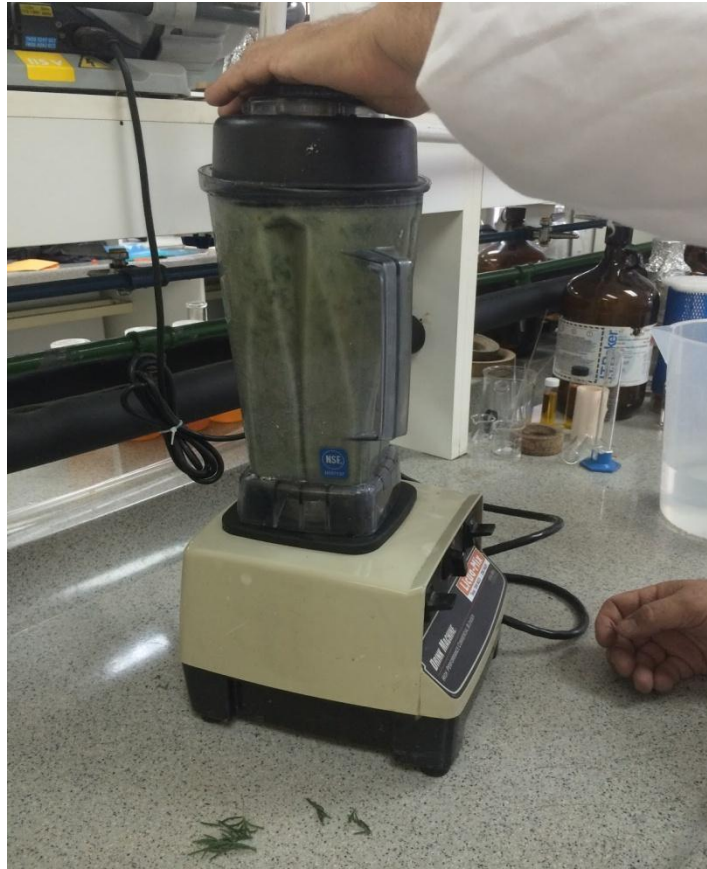


Figura 2. Equipo de licuado y trituración de ciprés con agua para la extracción de aceite esencial.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

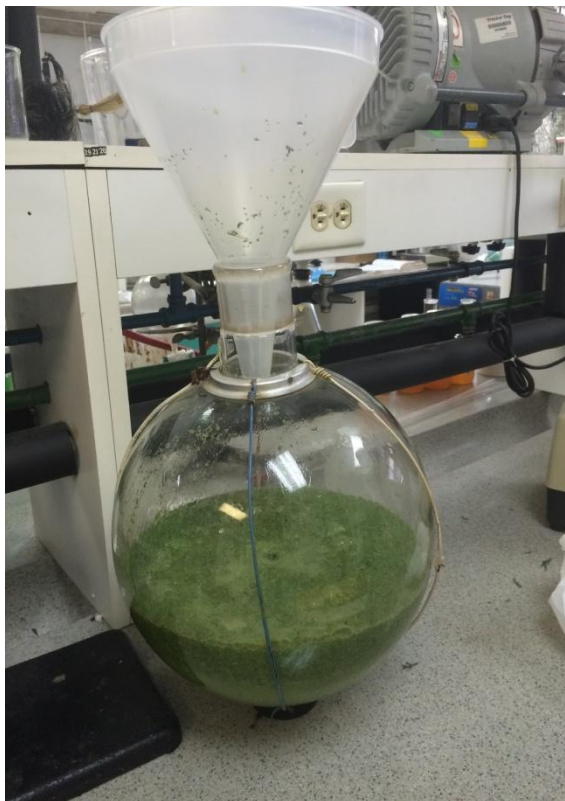


Figura 3. Licuado de 500 g de ciprés con 4 L de agua en el balón para la extracción de aceite esencial.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 4. Equipo de arrastre al vapor para extracción de aceite esencial de ciprés.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 5. Mezcla de ciprés contenida en balón suspendido en glicerina al 100 °C – 120 °C.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 6. Condensador del equipo de extracción de aceite esencial de arrastre al vapor.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

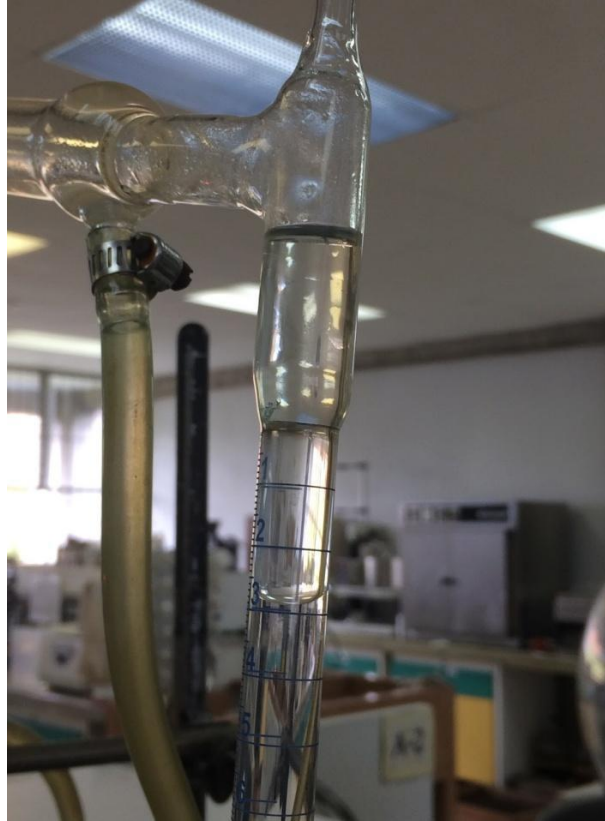


Figura 7. Recolección de extracto de aceite de ciprés puro.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 8. Recolección de 9 mL de aceite esencial de ciprés puro.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

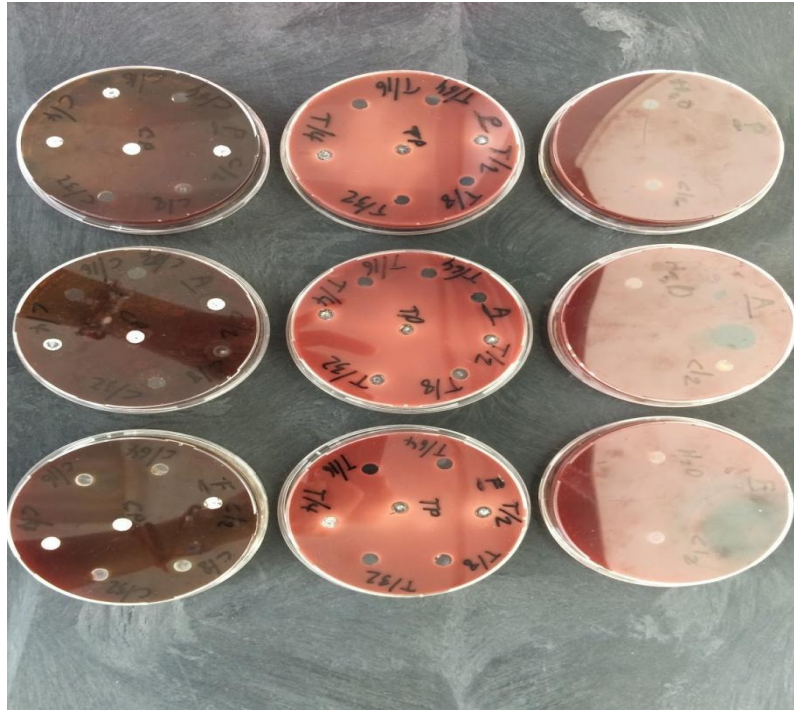


Figura 9. Placas de Petri en agar sangre con bacterias *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* y *Peptoestreptococos anaerobius* con extracto de tomillo y ciprés e hipoclorito y agua como control.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

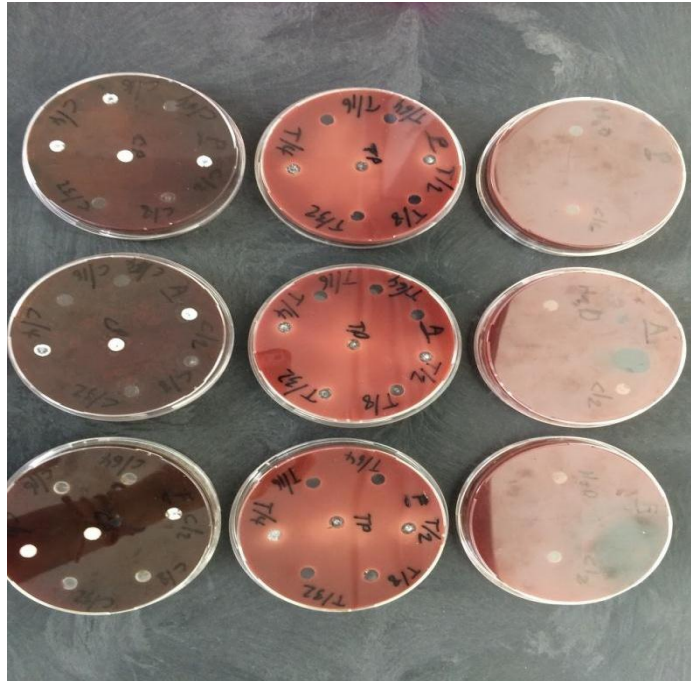


Figura 10. Placas de Petri en agar sangre con bacterias *Prevotella*, *Fusobacterium nucleatum* y *Peptoestreptococos anaerobius* con extracto de tomillo y ciprés e hipoclorito y agua como control.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 11. Placas de Petri en agar sangre con bacterias *Prevotella*, *Fusobacterium nucleatum* y *Peptoestreptococcus anaerobius* con extracto de tomillo e hipoclorito y agua como control.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 12. 850 g de ramas de tomillo utilizado para la extracción del aceite.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 13. Equipo de arrastre al vapor para extracción de aceite esencial de tomillo.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 14. Mezcla de tomillo contenida en balón suspendido en glicerina al 100 °C – 120 °C.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.



Figura 15. Condensador del equipo de extracción de aceite esencial de arrastre al vapor.

Fuente: Eduarte, J., Ramírez, Y. (2016). Seminario de Graduación Sustancias alternativas con acción antimicrobiana a partir de tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y ciprés (*Cupressus*). Programa Macro de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.