

In Vitro comparison of the antibacterial efficacy of two intracanal medications calcium hydroxide and chitosan

Comparación *In Vitro* de la eficacia antibacteriana de dos medicaciones intraconducto hidróxido de calcio y quitosano

 Ocaydi Bello-Márquez.^{1*}

¹Secretaría de la Defensa Nacional, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Ciudad de México, México.

Autor de Correspondencia: Ocaydi Bello-Márquez. Dirección: Batalla de Celaya 202, Lomas de Sotelo, Militar, Miguel Hidalgo, 11200, Ciudad de México, México. Correo electrónico: ocaydibello@gmail.com

Citación: Bello-Márquez. *Comparación In Vitro de la eficacia antibacteriana de dos medicaciones intraconducto hidróxido de calcio y quitosano.* *Rev. Sanid. Milit.* 2024;78(1):pp. 1-11

Abstract:

Objective: determine which of these intracanal medications (calcium hydroxide, chitosan, and calcium hydroxide+chitosan), shows more antibacterial effect on the sensitivity of *Enterococcus faecalis* bacterium.

Methodology: an in vitro study was carried out using the antimicrobial susceptibility technique applying the microdilution method in order to establish whether a concentration of the compounds was in three groups: Cluster 1: calcium hydroxide. Cluster 2: Chitosan. Cluster 3: calcium hydroxide + chitosan has antibacterial activity against the *Enterococcus faecalis* bacterium and to support this test, the antibiogram technique was performed by measuring inhibition halos to determine the sensitivity of *E. faecalis* to intracanal medications calcium hydroxide and chitosan.

Results: there are statistically significant differences in the intracanal medications of calcium hydroxide, chitosan, and calcium hydroxide+chitosan against the bacterium *Enterococcus faecalis*, showing better results when chitosan is used alone, in the colony-forming unit and in the antibiogram technique for inhibition halos showed better results.

Limitations: due to the shortage of Ketamine in hospital units, it is difficult to replicate the study in larger samples.

Value: a similar study has not been carried out at the *Escuela Militar de Graduados de Sanidad*.

Conclusions: chitosan is effective against *E. faecalis*, it can significantly reduce the number of bacteria at a low dilution of 100 mg/ml, therefore we can conclude that chitosan is a promising candidate for an alternative biocompatible antibacterial agent and can be used as a intracanal medication in root canal treatments.

Keywords: chitosan, antibacterial, sensitivity, *Enterococcus faecalis*



Resumen

Objetivo: determinar cuál de estas medicaciones intraconductos (hidróxido de calcio, quitosano e hidróxido de calcio+quitosano), muestra más efecto antibacteriano en la sensibilidad de la bacteria *Enterococcus faecalis*.

Metodología: se realizó un estudio *in vitro* por la técnica de susceptibilidad antimicrobiana aplicando el método macrodilución con el objeto de establecer si una concentración de los compuestos tres grupos: Grupo 1: hidróxido de calcio. Grupo 2: quitosano. Grupo 3: hidróxido de calcio+quitosano posee actividad antibacteriana ante la bacteria *Enterococcus faecalis* y para apoyar esta prueba se realizó la técnica antibiograma por medición de halos de inhibición con el objetivo de determinar la sensibilidad de *Enterococcus faecalis* a las medicaciones intraconducto hidróxido de calcio y quitosano.

Resultados: existen diferencias estadísticamente significativas en las medicaciones intraconducto de hidróxido de calcio, quitosano e hidróxido de calcio+quitosano frente a la bacteria *E. faecalis*, mostrando mejor resultado cuando se utiliza el quitosano solo, en la unidad formadora de colonias y en la técnica de antibiograma por halos de inhibición mostro mejores resultados.

Limitaciones: no se presentó alguna limitación durante el presente estudio.

Valor: no se ha realizado un estudio similar en la Escuela Militar de Graduados de Sanidad.

Conclusiones: el quitosano es efectivo contra *Enterococcus faecalis*, puede reducir significativamente la cantidad de bacterias en una dilución baja de 100 mg/ml, por lo tanto podemos concluir que el quitosano es un candidato prometedor como agente antibacteriano biocompatible alternativo y puede utilizarse como medicación intraconducto a futuro en tratamientos de conductos.

Palabras clave: quitosano, antibacteriana, sensibilidad, *Enterococcus faecalis*

ANTECEDENTES

El tratamiento de conductos busca eliminar en su totalidad la carga de bacterias en el interior del conducto radicular mediante la preparación biomecánica. Los microorganismos juegan un papel inequívoco en la infección del sistema de conductos radiculares. La mayoría de las enfermedades de la pulpa dental y los tejidos perirradiculares están asociadas a microorganismos.⁽¹⁾

El fracaso del tratamiento se produce cuando los procedimientos realizados al interior de los canales radiculares no logran un nivel satisfactorio de control y eliminación de la infección por las bacterias.⁽²⁾ El empleo de medicamentos intraconductos se ha indicado como estrategia entre sesiones para promover

la reducción adicional de la carga bacteriana, antes de la obturación del conducto y así lograr un mayor éxito en el tratamiento.⁽³⁾

Cicciú *et al.*, en el año 2019, describieron en una revisión sistemática de estudios clínicos recientes del uso del quitosano en odontología en el cual los resultados mostraron que este es un compuesto seguro de usar, con muchas propiedades positivas para la aplicación de odontología. El quitosano se utiliza en diferentes campos, con buenos resultados y son efectos secundarios informados.⁽⁴⁾

Kishen *et al.*, en el año 2008, fueron los primeros en el campo de las nanopartículas en evaluar la desinfección del conducto radicular mediante el uso de nanopartículas de quitosano.⁽⁵⁾

Parolia *et al.*, en el año 2020 en su estudio *in vitro* utilizó nanopartículas de quitosano junto con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para eliminar *E. faecalis* de los conductos. Esta combinación también resultó en la formación de barreras de membrana en el área perirradicular.⁽⁶⁾

Savitha *et al.*, en el año 2019 evaluaron *in vivo* la eficacia antimicrobiana del quitosano, el gel de gluconato de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y su combinación como medicamento intraconducto contra el *Enterococcus faecalis* en casos de endodoncia fallidos utilizando la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real donde concluyeron que la combinación de CHX con quitosano tuvo el efecto antibacteriano sinérgico más alto contra *E. faecalis* y puede usarse como un medicamento intraconducto en procedimientos endodónticos fallidos.⁽⁷⁾

Marlos *et al.*, en el año 2019 estudiaron la efectividad de la medicación intraconducto a base de hidróxido de calcio sobre contenidos infecciosos en dientes con periodontitis apical postratamiento en el cual concluyeron que los medicamentos a base de hidróxido de calcio han tenido un efecto positivo en la reducción microbiana al disminuir los niveles de citosinas proinflamatorias y metaloproteinasas de matriz.⁽¹⁾

Bedran *et al.*, en el año 2020 realizaron una revisión sistemática y metaanálisis sobre si el hidróxido de calcio reduce endotoxinas en los conductos radiculares infectados donde concluyeron que el hidróxido de calcio reduce los niveles de endotoxinas cuando se usa como medicación intraconducto, pero no puede eliminar los liposacáridos por completo independientemente de la solución de irrigación utilizada con muy poca certeza de evidencia.⁽⁸⁾

Diversos estudios indican que el objetivo principal de la medicación intraconducto entre sesiones consiste en erradicar la mayor cantidad de bacterias y microorganismos, que probablemente con la preparación químicomecánica, no se logran eliminar.

En diversas investigaciones revelan que la presencia de microorganismos en los conductos radiculares en dientes con fracaso endodóntico es la especie *Enterococcus faecalis*, esta se encuentra con mayor frecuencia ya que tiene una alta capacidad de sobrevivencia.

Así mismo se requiere un medicamento utilizado entre cada cita para reducir la presencia de esta especie y así garantizar un mayor éxito.

El objetivo del estudio fue evaluar la efectividad antibacteriana del hidróxido de calcio medicación intraconducto catalogado como “estándar de oro” usado en la actualidad y en la mayoría de casos, en comparación con el quitosano contra *Enterococcus faecalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de medios de cultivo.

Se realizó la preparación de medios de cultivo agar cerebro corazón bajo las indicaciones de fabricante, para posteriormente realizar las cajas Petri en condiciones asépticas en una campana de flujo laminado, según el método de susceptibilidad antimicrobiana aplicando el método de macrodilución se realizó el cultivo de la cepa *Enterococcus faecalis* colocando 100 ml de caldo de infusión cerebro corazón dejando incubar por 24 h en agitador electrónico para mantener la bacteria en fase exponencial.

Preparación de medicamentos

Se realizó una formula en relación peso/volumen para hacer las diluciones de los medicamentos utilizados 100 mg/ml para cada uno, Grupo 1: hidróxido de calcio, Grupo 2: quitosano y Grupo 3: hidróxido de calcio+quitosano.

Ensayo de la unidad formadora de colonias (UFC)

Se realizaron las diluciones agregando 5 ml de caldo en tubos de ensayo, tres repeticiones por cada medicamento, un control positivo y uno negativo, todos los tubos fueron rotulados previamente. Grupo 1: hidróxido de calcio, Grupo 2: quitosano, Grupo 3: hidróxido de calcio+quitosano, Grupo 4: control positivo y Grupo 5: control negativo. En cada dilución de los tubos ensayo del Grupo 1: se colocaron 100 ml de medicamento previamente realizado hidróxido de calcio y 100 ml de cepa *Enterococcus faecalis* previamente incubada, misma operación se realizó por triplicado para el grupo 2 y 3. El tubo de control negativo (control de esterilidad) no se colocó inóculo bacteriano y el tubo de control positivo se colocaron 100 ml de inóculo bacteriano. Posteriormente estos se incubaron a temperatura ambiente durante 24 h.

Microdiluciones: se colocaron en cada microtubo cónico 18 ml de solución fisiológica estéril desde la -1 hasta la -5. Se tomaron 20 μ L de un tubo de ensayo al azar de uno de los tres cultivos del Grupo 1: hidróxido de calcio, se colocó en el primer microtubo mezclando para homogenizar, esta sería la dilución a la -1, de esta se tomaron 20 μ L y se añadieron al segundo microtubo, se mezcló hasta homogenizar y esta fue la dilución a la -2, este procedimiento se realizó de la misma forma hasta llegar a la dilución a la -5. En cada grupo se tomó un tubo de ensayo al azar y se realizó el mismo procedimiento para quitosano e hidróxido de calcio+quitosano. Todos los microtubos fueron rotulados previo al procedimiento. Todo este procedimiento se realizó en la campana de flujo previamente desinfectada.

Siembra en placa: con ayuda de una micropipeta previamente graduada, con punta estéril en cada paso, se tomaron 20 μ L de la disolución a la -5 del grupo 1: hidróxido de calcio, se transfirió a una caja Petri con medio agar cerebro y corazón previamente realizado. Este procedimiento se realizó en 8 cajas Petri por cada grupo de medicamento y dos para el control positivo y negativo por último la totalidad de las cajas Petri se colocaron en la incubadora a 37° C por 24 horas.

Lectura de resultados: se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* de cada una de las 8 cajas Petri de cada grupo de medicamento por el método recuento en placa con ayuda de un contador de unidad formadora de colonias y con ayuda de la aplicación Colony Count.

Para apoyar este método se realizó la técnica antibiograma por medición de halos de inhibición con el objetivo de determinar la sensibilidad de *Enterococcus faecalis* a las medicaciones intraconducto hidróxido de calcio y quitosano como a continuación se explica:

Se realizó la preparación de agar Mueller Hilton bajo condiciones de fabricante para realizar cajas Petri, al mismo tiempo la preparación de medicamentos en las indicaciones previamente mencionadas condiciones peso volumen 1000 mg/ml de solución fisiológica, se colocaron 100 µL de cepa *E. faecalis* en la caja Petri, expandiendo con ayuda del triángulo en la totalidad de la superficie de esta, se dejó 10 minutos para que la cepa se absorbiera en esta, montaje de cuatro discos de papel filtro #1 de 0.7 mm de diámetro en la superficie de la caja Petri, cada disco fue tomado con pinzas esterilizadas con ayuda de alcohol al 70% y mechero. Estos fueron enumerados para Grupo 1: hidróxido de calcio disco 1,2,3 para este medicamento y disco 4 para control negativo con solución fisiológica, incubación por 18 hrs a 37° C. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada grupo de medicamento. Se realizó la lectura de resultados mediante la medición del diámetro de los halos de inhibición.

RESULTADOS

Las pruebas bacteriológicas se llevaron a cabo en los laboratorios de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad; el tratamiento de los datos se hizo en una hoja de cálculo Excel, fueron ordenados y agrupados para ser exportados al programa estadístico SPSS.

Las muestras fueron cajas Petri con agar cerebro y corazón, se utilizaron tres compuestos diferentes para comparar su efectividad contra el crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis*, se compararon resultados de dos pruebas diferentes, los datos de la muestra se observan en la Tabla 1.

Tabla 1. Datos descriptivos de las muestras analizadas

Susceptibilidad	muestras (UFC)	media±DE (UFC)	Distribución*
Hidróxido de calcio	8	205.50±22.76	Paramétrica
Hidróxido de calcio+quitosan	8	159.25±26.98	Paramétrica
Quitosan	8	33.50±5.04	Paramétrica
Antibiograma	muestras (cm)	media±DE (cm)	Distribución*
Hidróxido de calcio	9	1.90±0.79	Paramétrica
Hidróxido de calcio+quitosan	9	1.47±0.57	Paramétrica
Quitosan	9	1.04±0.24	No paramétrica

*La distribución de los datos se comprobó con la prueba Shapiro-Wilk (ICC 95%), se consideró distribución normal un valor $p > 0.05$. Datos descriptivos de las muestras analizadas en el estudio de comparación de tres compuestos sobre *E. faecalis* in vitro, año 2022.

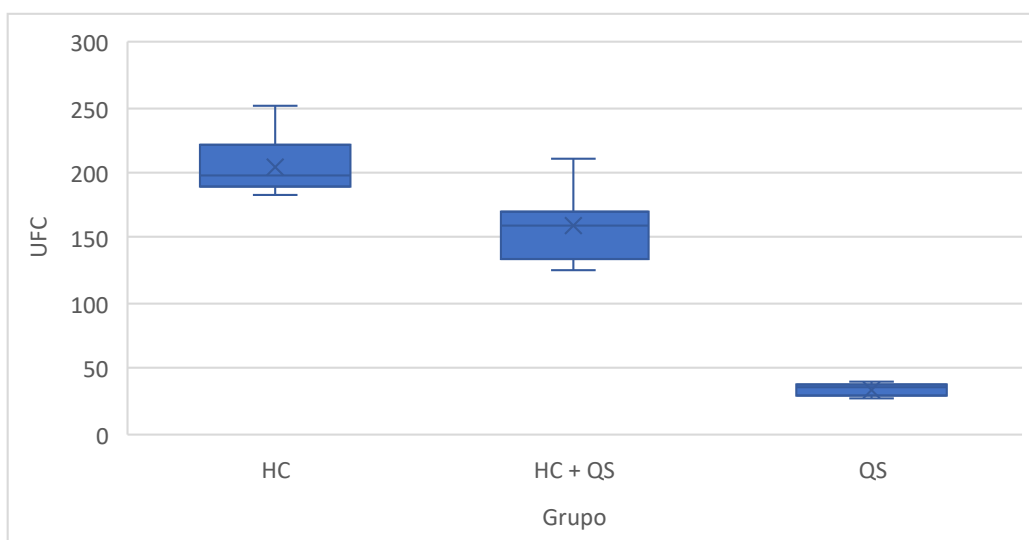
En primer lugar, la prueba de susceptibilidad con el método de dilución en placa donde se tomaron cajas de Petri separadas en 3 campos, a cada campo se le agregó 100 ml de los compuestos hidróxido de calcio (Grupo 1), hidróxido de calcio más quitosano (Grupo 2), y quitosano solo (Grupo 3). A las 24 horas de incubarse se cuantificaron las unidades formadoras de colonias, la prueba estadística utilizada para la comparación de los tres grupos fue ANOVA de un factor, la misma resultó significativa ($p < 0.05$), es decir que al menos en dos grupos de comparación se encontró diferencia significativa; para comprobar la diferencia entre grupos se corrió una prueba post-hoc de Bonferroni (IC 95%), en la Tabla 2 se muestra la diferencia de medias y la significancia estadística de este análisis para la prueba de susceptibilidad, visualmente se observan en la gráfica 1.

Tabla 2. Resultados de comparación de resultados

Marca referencia	Media±DE (UFC)	Comparación	Diferencia de medias (UFC)	Valor P
Hidróxido de calcio	205.50±22.76	HC+QS	46.25	0.001
		QS	172	0.000
Hidróxido de calcio+quitosano	159.25±26.98	HC	-46.25	0.001
		QS	125.75	0.000
Quitosano	33.50±5.04	HC	-172	0.000
		HC+QS	-125.75	0.000

Prueba ANOVA de un factor significativa ($p < 0.05$) con prueba post-hoc de Bonferroni, se considera significativo un valor $p < 0.05$ Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Resultados de comparación de resultados de técnica de difusión en placa para tres compuestos sobre *E. faecalis* in vitro, año 2022

Gráfica 1. Resultado de la técnica de difusión en placa



Resultados de comparación de resultados de técnica de difusión en placa para tres compuestos sobre *E. faecalis* in vitro, año 2022

La Tabla 1 muestra que hubo diferencia significativa en todas las comparaciones con la prueba post-hoc, las diferencias de medias más destacables fueron entre el grupo hidróxido de calcio vs quitosano y el grupo hidróxido de calcio+quitosano vs quitosano, esto indica que en este experimento el compuesto quitosano parece tener mejores resultados al aplicarse solo que si se aplica en combinación con el hidróxido de calcio.

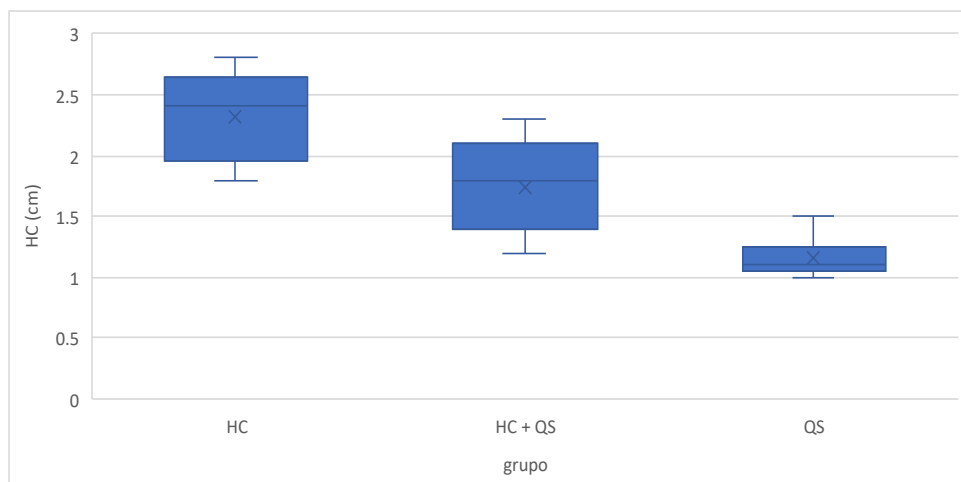
En segundo lugar, se realizó un antibiograma utilizando discos estériles impregnados con los tres compuestos; nueve discos por medicamento divididas en tres áreas, se colocaron los sensidiscos y a las 18 horas de incubación se midió el diámetro de los halos de inhibición, estos resultados se compararon con la prueba Kruskal-Wallis (ANOVA no paramétrica) con IC 95%, resultando significativa la diferencia intergrupos ($p < 0.05$), lo que sugiere que al menos en dos de los grupos hay diferencia significativa, se corrió la prueba post-hoc de Bonferroni para localizar la diferencia entre los grupos; los resultados muestran en la Tabla 3 y Gráfica 2.

Tabla 3. Resultados de comparación de resultados de antibiograma para tres compuestos

Marca referencia	Media±DE	Comparación	Diferencia de medias	Valor P
Hidróxido de calcio	2.31±0.36	HC+QS	0.57	0.003
		QS	1.15	0.000
Hidróxido de calcio+quitosano	1.73±0.39	HC	-0.57	0.003
		QS	0.57	0.003
Quitosano	1.15±0.15	HC	-1.15	0.000
		HC+QS	-0.57	0.003

Prueba Kruskal-Wallis de un factor significativa ($p < 0.05$) con prueba post-hoc de Bonferroni, se considera significativo un valor $p < 0.05$. Resultados de comparación de resultados de antibiograma para tres compuestos sobre *E. faecalis* in vitro, año 2022

Grafica 2. Resultados de antibiograma



Resultados de comparación de resultados de antibiograma para tres compuestos sobre *E. Faecalis* in vitro, año 2022.

Los resultados del antibiograma muestran que el grupo con mejores resultados fue el quitosano simple, aunque en todos los grupos se encontró diferencia significativa, en este experimento el grupo que combina hidróxido de calcio con quitosano obtuvo beneficios menores.

DISCUSIÓN

Esta investigación destinada al estudio de la comparación *in vitro* de la eficacia antibacteriana del hidróxido de calcio y quitosano sobre el *Enterococcus faecalis*, se evidenció que el quitosano tuvo una mayor actividad antibacteriana, teniendo menor UFC sobre los compuestos de hidróxido de calcio y quitosano tomando en consideración que este fue realizado por la técnica de susceptibilidad antimicrobiana aplicando el método macrodilución y para apoyar esta prueba se realizó la técnica de antibiograma por medición de halos de inhibición.

En un estudio realizado en el 2020 por Nan Wang *et al.* en el cual estudiaron el efecto antibacteriano del quitosano y su derivado sobre *Enterococcus faecalis* asociado con la infección endodóntica en este concluyeron que el efecto del quitosano se mejoró a medida que aumentaba la concentración, los resultados en el ensayo de UFC (106/ml) sugirieron que en la mayoría de las condiciones, el efecto antibacteriano del quitosano en agua doble destilada fue mayor que la del cloruro de quitosano de propilo en la misma concentración. Así mismo también mencionan que en la comparación del quitosano y el cloruro de quitosano de propilo en agua doble destilada, fue el quitosano el que tuvo un efecto antibacteriano significativo en la biopelícula de *E. faecalis* a diferencia de este estudio donde la concentración del quitosano fue aumentada 100mg de medicamento/1 ml en solución fisiológica en cada disolución.⁽⁹⁾

Apimon S. *et al.*, en el 2020 en su investigación demostró que el quitosano de 1700 y 2100 peso molecular tiene actividad antibacteriana contra *E. faecalis* en la concentración bactericida mínima durante 1,3,10 y 60 min. En los ensayos se sembraron en infusión cerebro y corazón (BHI) para el recuento de colonias. En ambos tipos de quitosano cantidades significativamente más bajas de bacterias (longitud unidades formadoras de colonias por milímetro, log CFU/ml). La concentración bactericida mínima (2mg/ml), ambos tipos de quitosano podrían eliminar 10^6 células/ml de *E. faecalis* en 60 min. Y podría reducir significativamente el número de *E. faecalis* después de 10 min, en tiempo de contacto a diferencia de este estudio donde la concentración fue más elevada en un tiempo de 24 h e igual el quitosano mostro que es un buen candidato para convertirse en un agente antibacteriano útil en tratamiento de endodoncia frente a *E. faecalis*.⁽¹⁰⁾

Estudios previos realizados por A. Parolia, H. Kumar, S. Ramamurthy y F. Davamani en 2020 investigaron la efectividad de quitosano/propóleo frente a *Enterococcus faecalis* en el conducto radicular en el cual se determinó el número total de UFC al final de uno, tres y siete días, el que el quitosano/propóleo 250 mg/ml en los días uno y tres mostró una reducción significativa de las UFC en comparación con los grupos 1: solución salina, 2: quitosano 3: propóleo 100 mg/ml, 5: Ca(OH)₂+QS y 7: clorhexidina al 2%, no coincide con en este estudio donde se evidenció mejor acción del QS en comparación sobre si se agrega quitosano al hidróxido de calcio o se utiliza solo este como mediación intraconducto, muestra una alta reducción de UCF de *E. faecalis*, esto se puede deber a que el estudio fue realizado en túbulo dentinarios estandarizados con *E. faecalis* y en este estudio se utilizaron cajas Petri.⁽⁶⁾

En el 2017 Del Carpio *et al.*, realizaron un estudio *in vitro* de las propiedades antibacterianas de quitosano y propóleo asociados con hidróxido de calcio mediante un análisis microbiológico para determinar la reducción de *E. faecalis*, en este obtuvieron que todas las pastas fueron capaces de reducir significativamente la *E. faecalis*, unidades formadoras de colonias (UFC) después de 7 o 14 días. Sin embargo, la reducción de UFC mejoró significativamente cuando se incorporó quitosano en el Ca(OH)_2 . Los biofilms tratados solo con Ca(OH)_2 mostraron porcentajes de viabilidad bacteriana similares al control independientemente al tiempo de exposición, en este estudio igual se realizaron las comparaciones al agregar quitosano al hidróxido de calcio en el cual las diferencias de medias más destacables fueron entre el grupo hidróxido de calcio vs quitosano y el grupo hidróxido de calcio+quitosano vs quitosano, esto indica que en este experimento el compuesto quitosano parece tener mejores resultados al aplicarse solo que si se aplica en combinación con el hidróxido de calcio.⁽¹¹⁾

En un estudio *in vitro* realizado por Ballal *et al.*, en el 2010 en que evaluaron los cambios de pH del hidróxido de calcio con diferentes vehículos (propilenglicol, poliglicol 6000, quitosano y goma guar) durante un periodo de 30 días, en el cual obtuvieron los resultados que la formulación de quitosano mostró la máxima liberación sostenida de iones de calcio en comparación con las otras formulaciones. Todas las formulaciones obtuvieron un pH alcalino alto hasta los 30 días. En este estudio se agregó QS al Ca(OH)_2 para realizar las comparaciones con hidróxido de calcio y quitosano en las unidades formadoras de colonias en la cual hubo diferencia significativa para los tres compuestos pero mostró mejores resultados el quitosano solo. Esto no excluye que el quitosano se puede utilizar como vehículo agregado al hidróxido de calcio prometedor para la liberación sostenida de iones de calcio del hidróxido de calcio en el sistema de conductos radiculares.⁽¹²⁾

CONCLUSIONES

La medicación intraconducto es una parte esencial del tratamiento endodóntico. Aunque su uso parece estar disminuyendo, son útiles en casos donde el pronóstico es cuestionable o parece ser desfavorable. Los resultados de esta investigación permiten concluir lo siguiente: el quitosano como medicación intraconducto fue superior al hidróxido de calcio y al hidróxido de calcio+quitosano al presentar menor unidades formadoras de colonias frente a la bacteria *Enterococcus faecalis* en el presente estudio *in vitro*. A sí mismo en los resultados del antibiograma muestran que el grupo con mejores resultados *in vitro* fue el quitosano simple, aunque en todos los grupos se encontró diferencia significativa, en este experimento el grupo que combina hidróxido de calcio con quitosano obtuvo beneficios menores.

El hidróxido de calcio si muestra efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* pero este fue inferior al uso de quitosano solo tanto en la prueba de antibiograma con medición de halos de inhibición como en el método de técnica de susceptibilidad antimicrobiana aplicado el método macrodilución.

El hidróxido de calcio+quitosano utilizado como medicación intraconducto, fue inferior a los efectos que ofrece el QS solo y al Ca(OH)_2 frente a la sensibilidad de la bacteria *Enterococcus faecalis*. Podemos concluir que no afecta el uso de QS como vehículo para el hidróxido de calcio.

Por lo tanto podemos concluir que el quitosano es un candidato prometedor como agente antibacteriano biocompatible, alternativo y puede utilizarse como medicación intraconducto en tratamientos de conductos ya que en el presente estudio *in vitro* lo mostró.

AGRADECIMIENTOS

A las Doctora Jessica Karina Zamora Carrillo directora de este proyecto, al cap 2/o. Snd. Alexis Deneb Aguilera Hernández por su apoyo y compromiso con este proyecto, al Mtro. en Ciencias y E.B.C Ruben Gerardo Zamora Mendoza, Tte. Q.B Lucila Maritza Lozano Trenado por su dedicación, apoyo y horas extras en el trabajo de laboratorio, agradecimiento a la Escuela Militar de Graduados de Sanidad prestando sus instalaciones y personal con alta calidad profesional para el desarrollo de la ciencia médica, agradecimiento especial a mis padres, a mis maestros, a mis compañeros y amigos.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Los recursos para esta investigación fueron proporcionados por la Escuela Militar de Graduados de Sanidad, México.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existe conflicto de interés

REFERENCIAS

1. **Singh H.** **Microbiology of endodontic infections.** *Journal of Dental and Oral Health.* 2016, 2(5), 2-4.
2. **Rodríguez-Niklitschek C., Oporto V. G. H.** Clinical implications of *Enterococcus faecalis* microbial contamination in root canals of devitalized teeth: Literature review. *Revista Odontológica Mexicana.* 2015, 19(3), 181-186. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rodMex.2015.04.002>
3. **Jiménez Rojas. L. F, Juárez M. & Rodriguez Ferrerira Alves. F.** Penetration and Diffusion Capacity of Intra-duct Medication in Dentinal Tubules, Lateral Canals and Isthmus. A Systematic Review. *Int.J. Odontostomant.* 2021, 15(3), 727-733.
4. **Cicciù M, Fiorillo L, Cervino G.** Use of chitosan in dentistry: a systematic review of recent clinical studies. *Marine Drugs.* 2019, 17(417), 2-14. doi: <https://doi.org/10.3390%2Fmd17070417>
5. **Kishen A, Shi Z, Shrestha A, Neoh KG.** An investigation on the antibacterial and antibiofilm efficacy of cationic nanoparticles for root canal disinfection. *J Endod.* 2008, 34(12), 1515-1520. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.08.035>
6. **Parolia A, Kumar H, Ramamurthy S, Davamani F, Pau A.** Effectiveness of chitosan nanoparticles, propolis against *enterococcus faecalis* biofilms in the root canal. *BMC Oral Health.* 2020, 20(339), 2-14. doi: <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01330-0>.

7. **Savitha A, SriRekha A, Vijay R, Ashwija, Champa C, Jaykumar T.** An in vivo comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of chitosan, chlorhexidine gluconate gel, and their combination as an intracanal drug against enterococcus faecalis in failed endodontic cases using real-time polymerase chain reaction. *Rev. Dental Saudi.* 2019, 31(3), 360-366. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2019.03.003>
8. **Bedran NR, Nadelman P, Magno MB, de Almeida Neves A, Ferreira DM, Braga Pintor AV, et al.** Does Calcium Hydroxide Reduce Endotoxins in Infected Root Canals? Systematic Review and Meta-analysis. *J Endo* 2020;46(11): 1545–1558. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.08.002>
9. **Wang N, Ji Y, Zhu Y, Wu X, Mei L, Zhang H, et al.** Antibacterial effect of chitosan and its derivative on Enterococcus faecalis associated with endodontic infection. *Exp Ther Med.* 2020;19(6): 3805–3813. doi: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8656>.
10. **Supotngarmkul A, Panichuttra A, Ratisoontorn C, Nawachinda M, Matangkasombut O.** Antibacterial property of chitosan against E. faecalis standard strain and clinical isolates. *Dent Mater J.* 2020;39(3): 456–463. doi: <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-343>.
11. **Del Carpio-Perochena A, Kishen A, Felitti R, Bhagirath AY, Medapati MR, Lai C, et al.** Antibacterial Properties of Chitosan Nanoparticles and Propolis Associated with Calcium Hydroxide against Single- and Multispecies Biofilms: An In Vitro and In Situ Study. *J Endod.* 2017;43(8): 1332–1336. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.03.017>.
12. **Ballal NV, Shavi GV, Kumar R, Kundabala M, Bhat KS.** In vitro sustained release of calcium ions and pH maintenance from different vehicles containing calcium hydroxide. *J Endod.* 2010;36(5): 862–866. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.12.021>