

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



EFFECTO COMPARATIVO IN VITRO DE LA ASOCIACIÓN DE CETRIMIDA AL 0.5% + CLORHEXIDINA AL 2%, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y CLORHEXIDINA AL 2 % SOBRE BIOFILM DE “*Enterococcus Faecalis*” GENERADO EN MEMBRANA DE NITRATO DE CELULOSA, LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UCSM, AREQUIPA 2015”

Tesis presentada por el Bachiller:

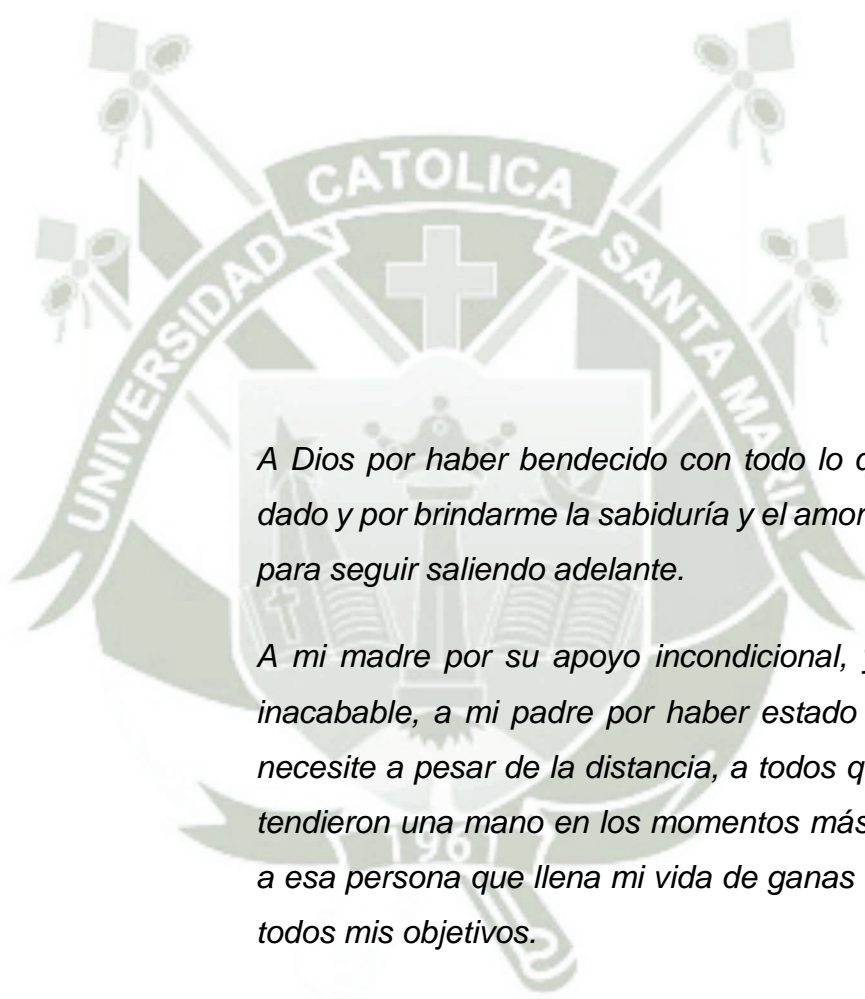
RODRIGO CORIAT GUTIÉRREZ

Para optar el Título Profesional de

CIRUJANO DENTISTA

AREQUIPA – PERÚ

2015



A Dios por haber bendecido con todo lo que me ha dado y por brindarme la sabiduría y el amor necesario para seguir saliendo adelante.

A mi madre por su apoyo incondicional, y su amor inacabable, a mi padre por haber estado cuando lo necesite a pesar de la distancia, a todos quienes me tendieron una mano en los momentos más difíciles y a esa persona que llena mi vida de ganas de cumplir todos mis objetivos.

ÍNDICE

RESUMEN	06
ABSTRACT.....	08
INTRODUCCIÓN	10
CAPÍTULO I:	
PLANTEAMIENTO TEÓRICO	
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	14
1.1. Determinación del Problema.....	14
1.2. Enunciado del Problema	15
1.3. Descripción del Problema	15
a. Área del Conocimiento	15
b. Operacionalización de variables.....	15
c. Interrogantes Básicas	16
d. Taxonomía de la investigación	16
1.4. Justificación.....	16
2. OBJETIVOS	17
3. MARCO TEÓRICO.....	18
3.1. Conceptos básicos.....	18
3.1.1. Concepto de preparación biomecánica de conductos radiculares.....	18
3.1.2. Concepto de Biofilm.....	30
3.1.3. <i>Enterococcus Faecalis</i>	34
3.1.4. Biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i>	36
3.2. Revisión de Antecedentes Investigativos.....	38
4. HIPÓTESIS	44

CAPÍTULO II:

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICA, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN.....	46
1.1. Técnica	46
1.2. Instrumentos	48
1.3. Materiales.....	49
2. CAMPO DE VERIFICACIÓN.....	50
2.1. Ubicación Espacial	50
2.2. Ubicación Temporal	50
2.3. Unidades de Estudio	50
3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	52
3.1. Organización	52
3.2. Recursos	52
a. Recursos Humanos	52
b. Recursos Físicos	52
c. Recursos Económicos	52
d. Recursos Institucionales	52
3.3. Validación del instrumento	52
4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS	53
4.1. Plan de procesamiento	53
4.2. Plan de análisis	53

CAPÍTULO III:

RESULTADOS

* PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	56
* DISCUSIÓN.....	70
* CONCLUSIONES	73
* RECOMENDACIONES.....	74

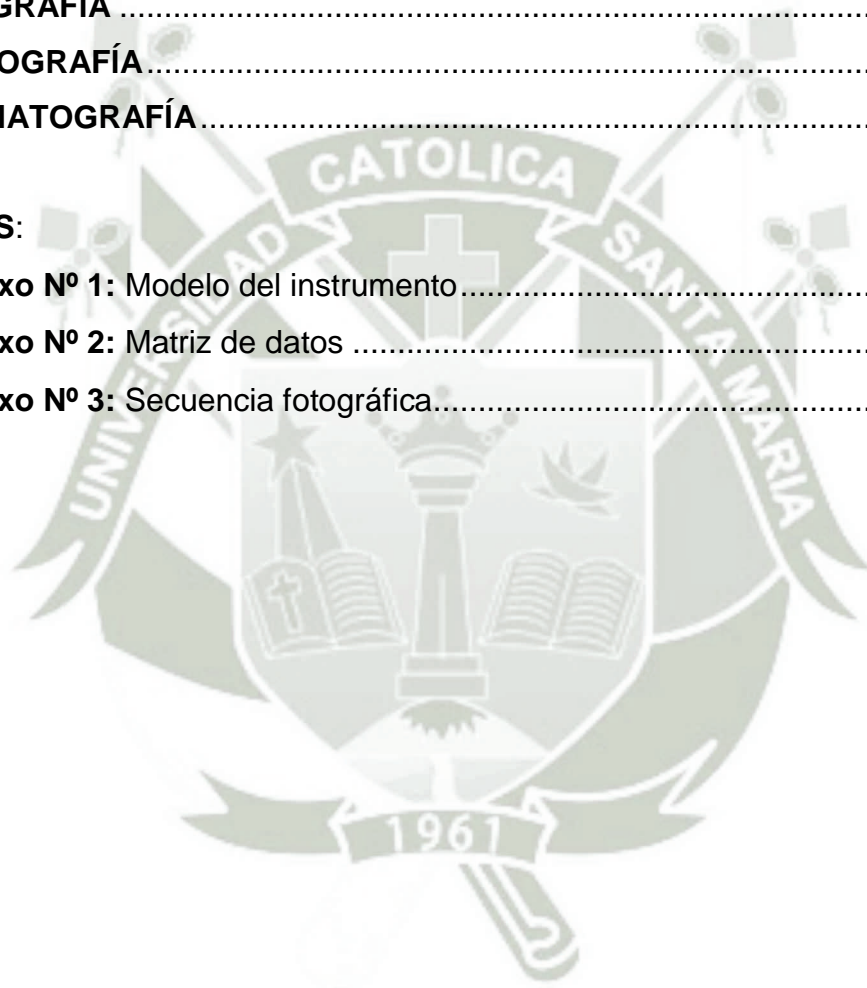
BIBLIOGRAFÍA	75
---------------------------	-----------

HEMEROGRAFÍA.....	76
--------------------------	-----------

INFORMATOGRAFÍA.....	78
-----------------------------	-----------

ANEXOS:

• Anexo N° 1: Modelo del instrumento.....	81
• Anexo N° 2: Matriz de datos	83
• Anexo N° 3: Secuencia fotográfica.....	85



RESUMEN

El propósito de este estudio fue comparar el efecto de la asociación de la Ceftriaxona al 0.5% + clorhexidina al 2%, hipoclorito al 5.25% y clorhexidina al 2%, sobre biofilm de *Enterococcus faecalis* generado en filtros de membrana de nitrato de celulosa, en tres tiempos diferentes.

La muestra se constituyó de un total de 108 filtros de membrana sobre las que se generaron los biofilms, estas fueron divididas en 4 grupos de 27, para cada una de las soluciones irrigantes y el grupo control (cloruro de sodio al 0.9%). cada grupo conto con 9 membranas para ser sometidas a las soluciones en 1, 5 y 15 minutos.

Una vez generados los biofilms, cada filtro de membrana fue cuidadosamente sumergido en recipientes que contenían 5 ml. de la solución irrigante o cloruro de sodio 0.9%, que fueron dejados a temperatura ambiente por cada uno de los periodos de tiempo indicados.

Terminado el periodo de acción de las soluciones irrigantes, se retiraron los filtros de membrana y fueron llevados a tubos conteniendo 5 ml. de caldo neutralizante, para detener la acción de los irrigantes, se sometieron a vortex por 5 minutos.

Los filtros de membrana se cultivaron en caldo BHI en condiciones de anaerobiosis a 37 °C, por 24h. Al cabo de este periodo de tiempo se hizo la lectura de turbidez con espectrofotómetro y así determinar la actividad contra el biofilm de *Enterococcus faecalis*.

Los resultados promedio de acuerdo a la prueba estadística de Tukey fueron los siguientes: la combinación de Ceftriaxona al 0.5% + clorhexidina al 2% a los 5 minutos de exposición obtuvo una lectura promedio de absorbancia = 0.2789, la clorhexidina al 2% obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 0.5678 a los 5 minutos de exposición, el hipoclorito de sodio al 5.25% obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 1.0856 a los 5 minutos de exposición, el cloruro de

sodio al 0.9% (grupo control) obtuvo una lectura promedio de absorbancia de 1.3067.

Además en la comparación de las 3 soluciones en cada tiempo ensayado se obtuvo diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$)

Palabras clave: Ceftriaxona, clorhexidina, hipoclorito de sodio, *Enterococcus faecalis*, biofilm.



ABSTRACT

The aim of this study was to compare the effect of the Cetrimide 0.5% + 2% chlorhexidine, hypochlorite 5.25% and 2% chlorhexidine on biofilm of *Enterococcus faecalis* generated membrane filters cellulose nitrate, at three different times.

The sample consisted of a total of 108 membrane filters on which biofilms were generated, these were divided into 4 groups of 27 for each of the irrigating solutions and the control group (sodium chloride 0.9%). each group had nine membranes to be subjected to the solutions in 1, 5 and 15 minutes.

Once generated biofilms, each membrane filter was carefully submerged in containers containing 5 ml. of irrigating solution or 0.9% sodium chloride, which were left at room temperature for each of the time periods indicated.

After the period of action of irrigating solutions, membrane filters were removed and taken to tubes containing 5 ml. neutralizing broth, to stop the action of irrigants, subjected to vortex for 5 minutes.

Membrane filters were grown in BHI broth under anaerobic conditions at 37 ° C for 24h. After this period of time did turbidity reading spectrophotometer to calculate UFT and determine activity against *Enterococcus faecalis* biofilm.

The average results according to statistics Tukey test were: the combination of cetrimide 0.5% + chlorhexidine 2% to 5 minutes of exposure obtained an average reading absorbance = 0.2789, chlorhexidine 2% obtained a reading 0.5678 average absorbance after 5 minutes of exposure, sodium hypochlorite 5.25% earned an average of 1.0856 absorbance reading at 5 minutes of exposure, sodium chloride 0.9% (control group) received an average reading absorbance of 1.3067.

Also in comparing the three solutions at each time tested statistically significant differences ($P < 0.05$) was obtained

Key words: Cetrimide, chlorhexidine, sodium hypochlorite, Enterococcus faecalis, biofilm.



INTRODUCCIÓN

La odontología contemporánea, ha desarrollado una serie de especialidades que han permitido que se puedan realizar una serie de tratamientos que tienen por finalidad la preservación de las piezas dentarias en boca, incluso cuando estas presentan patologías que pueden resultar sumamente difíciles de tratar.

Una de estas especialidades es la endodoncia, rama de la odontología que se ocupa de tratar el sistema de conductos radiculares y las diversas patologías asociadas a estos. Se ha definido que todos los pasos del tratamiento endodóntico tienen vital importancia, ya desde la apertura hasta la obturación, estos procedimientos tienen gran implicancia en el éxito del tratamiento y su perduración en el tiempo.

La preparación biomecánica es probablemente el momento en el cual la pericia del especialista se pone a prueba, pues este habiendo ya determinado su diagnóstico, debe ser capaz de elegir de manera correcta la técnica de instrumentación, soluciones irrigantes, medicación intraconducto, etc.

De esta manera la solución irrigante a utilizar debe ser elegida teniendo en consideración el objetivo que se pretende alcanzar, debiendo ser este la obturación de los conductos radiculares en condiciones asépticas. Este objetivo no siempre se puede conseguir, ya que sobre todo en las patologías pulpares con reacción periapical crónica y en periodontitis apical resistente; la presencia de biofilms bacterianos han constituido una de las barreras más difíciles de eliminar. Estos biofilms han sido profundamente investigados, dando como resultado que una de las especies más persistentes en estas condiciones es el *Enterococcus faecalis*. Especie que reúne una serie de condiciones que le permite vivir en ambientes críticos.

Es así que a lo largo de la evolución de la especialidad endodoncia, se han propuesto diversas soluciones irrigantes que no solo cuenten con las

características básicas, sino que puedan eliminar estos biofilms. En la búsqueda de la solución inocua se ha destacado el uso del hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones y la clorhexidina principalmente, además de agentes como el EDTA que propicien la asepsia del conducto. Habiéndose obtenido diversos resultados en las investigaciones realizadas, habiendo discrepancias en los efectos positivos y posibles efectos adversos que puedan producir el uso de una u otra solución.

Cetrimida es un surfactante catiónico que ha sido poco estudiado en nuestro medio, del cual se tiene reportes que por su naturaleza produce sinergia si se usa en combinación con soluciones irrigantes como la clorhexidina, e incluso por si solo tiene alta actividad antimicrobiana.

Investigaciones in vitro antes realizadas, muestran diversos resultados, pero algunas de estas se realizan utilizando métodos que no siempre son capaces de reproducir o imitar las condiciones en las que las infecciones del conducto radicular realmente se producen. Es así que los estudios bacterianos en endodoncia deben ser analizados en su forma de biofilm.

La tesis consta de tres capítulos. En el Capítulo I, denominado Planteamiento Teórico se aborda el problema, los objetivos, el marco teórico y la hipótesis.

En el Capítulo II, se aborda el Planteamiento Operacional, consiste en las técnicas, instrumentos y materiales, así como el campo de verificación, y las estrategias de recolección y manejo de resultados.

En el Capítulo III, se presenta los Resultados de la Investigación que involucran el Procesamiento y Análisis Estadístico, es decir las tablas, gráficas e interpretaciones, así como la Discusión, las Conclusiones y Recomendaciones.

Finalmente se incluye la Bibliografía y la Hemerografía, y los Anexos correspondientes.

Esperando que los resultados de la presente investigación incrementen los conocimientos del proceso investigativo de la Endodoncia, y contribuyan a consolidar las líneas de investigación en estas disciplinas.





CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

I.- PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Determinación del problema.

Uno de los procedimientos más rigurosos de la ciencia odontológica es la endodoncia. Desde que esta disciplina fue incluida como una especialidad de la odontología, se ha tratado de encontrar los métodos con mayor eficacia para la instrumentación del sistema de conductos, soluciones de irrigación inocuas y altamente eficaces, medicaciones que posean la mayor acción antibacteriana y biocompatibles con el complejo dentino -pulpar – periodontal.

Durante la fase de la preparación biomecánica se utilizan instrumentos y soluciones irrigadoras con el fin de desinfectar el conducto radicular, sin embargo este objetivo no puede ser siempre alcanzado pues se ha comprobado que la presencia de biofilms bacterianos son muy resistentes a las soluciones irrigadoras, incluso resistente a antibióticos de última generación.

La presente investigación pretende comparar la efectividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio, clorhexidina y la asociación de clorhexidina – cetrimida, sobre el biofilm una de las especies bacterianas más resistente y predominante en casos de periodontitis apical persistente, es decir retratamientos endodonticos, como es el *Enterococcus faecalis*.

1.2 Enunciado

EFFECTO COMPARATIVO IN VITRO DE LA ASOCIACIÓN DE CETRIMIDA AL 0.5% + CLORHEXIDINA AL 2%, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y CLORHEXIDINA AL 2 % SOBRE BIOFILM DE “*Enterococcus Faecalis*” GENERADO EN MEMBRANA DE NITRATO DE CELULOSA, LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UCSM, AREQUIPA 2015”

1.3 Descripción del problema

a. Área del conocimiento

- **Área general** : Ciencias de la salud.
- **Área específica**: Odontología
- **Especialidad** : Endodoncia.
- **Línea o Tópico**: Microbiología endodóntica

b. Análisis u operacionalización de variables

VARIABLES		INDICADORES	SUBINDICADORES
VE 1	Cetrimida al 0.5% + Clorhexidina al 2%		
VE 2	Hipoclorito de sodio al 5.25%		
VE 3	Clorhexidina 2%		
VR	Eliminación del biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i>	Grado de absorbancia	1 minuto 5 minutos 15 minutos

c. Interrogantes básicas

- ¿Cuál será el efecto de asociación de Cetrimida al 0.5% + Clorhexidina al 2% sobre biofilm de *Enterococcus faecalis*?
- ¿Cuál será el efecto de Hipoclorito de sodio al 5.25% sobre biofilm de *Enterococcus faecalis*?
- ¿Cuál será el efecto de Clorhexidina 2% sobre biofilm de *Enterococcus faecalis*?
- ¿Cuál de las 3 soluciones tendrá el mejor efecto para eliminación de biofilm de *Enterococcus faecalis*?

d. Taxonomía de la investigación

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Por la técnica de recolección	Por el tipo de dato	Por el nº de mediciones de la variable	Por el nº de muestras o poblaciones	Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Experimental	Prospectivo	Longitudinal	Comparativa	De campo	Cuasi experimental	Explicativo

1.4 Justificación

a) Originalidad

El presente trabajo pretende analizar aspectos que no han sido evaluados en nuestro medio universitario, pues se han hecho muchos estudios sobre este microorganismo, pero ninguno con las técnicas a usar para obtener un biofilm.

b) Relevancia científica

Se busca ampliar el conocimiento acerca de la Cetrimida, una solución irrigante poco conocida en el medio, y emplear un método científicamente innovador, para tener un mayor criterio en el uso de soluciones irrigadoras.

c) Actualidad

En los últimos tiempos se ha tratado de describir la mayor cantidad posible de soluciones ante la terapia endodóntica, por lo cual se presenta un tema que trasciende los temas de interés actual.

d) Viabilidad

Es viable pues se cuenta con los medios y materiales usados para el análisis.

2. OBJETIVOS

- 2.1. Evaluar el efecto de la asociación de Cetrimida al 0.5% + Clorhexidina al 2% sobre biofilm de *Enterococcus faecalis* a 1, 5 y 15 minutos.
- 2.2. Evaluar el efecto de Hipoclorito de sodio al 5.25% sobre biofilm de *Enterococcus faecalis* a 1, 5 y 15 minutos.
- 2.3. Evaluar el efecto de Clorhexidina 2% sobre biofilm de *Enterococcus faecalis* a 1, 5 y 15 minutos.
- 2.4. Comparar cuál de las 3 soluciones tendrá el mejor efecto para eliminación de biofilm de *Enterococcus faecalis* a 1, 5 y 15 minutos.

3. MARCO TEÓRICO.

3.1 Conceptos básicos

3.1.1 Concepto de preparación biomecánica de conductos radiculares

La preparación biomecánica es una de las etapas de mayor importancia en el procedimiento de endodoncia, esta fase se realiza por medio de instrumentos manuales y/o mecánicos ayudados de soluciones irrigadoras con propiedades químicas específicas, que en conjunto hacen posible la limpieza, conformación y desinfección de los conductos radiculares y de esta manera se pueda proceder con la obturación de estos.¹

El término preparación biomecánica, fue introducido en la II Convención Internacional de Endodoncia realizada en la Universidad de Pennsylvania, Filadelfia, USA en 1953, para designar a este acto operatorio pues debía cumplir con principios y exigencias biológicas.

Anteriormente estos procedimientos fueron descritos por autores como Grossman en 1943 y más tarde reafirmados por Auerbach en 1953, Stewart en 1955, Vella 1955, Schilder en 1967.

Finalidades de la Preparación Biomecánica en las Biopulpectomías

- Combatir la posible infección superficial de la pulpa.
- Remover la pulpa coronaria y radicular, restos pulpares y sangre infiltrada en los túbulos dentinarios.
- Prevenir el oscurecimiento dental
- Rectificar, lo más posible, las curvaturas del conducto radicular.
- Preparar el stop apical (escalón apical).

¹ SOARES José, GOLDBERG Fernando, Endodoncia: técnica y fundamentos, pág. 77

- Ensanchar y alisar las paredes del conducto dentinario, dándole conformación cónica y preparándolo para recibir la obturación.
- Remover las virutas de dentina y *smear-layer* producidos durante la instrumentación del conducto radicular.
- Preservar la vitalidad del muñón pulpar, ramificaciones laterales, secundarias y accesorias.
- Disminuir la tensión superficial de las paredes dentinarias.
- Dejar el conducto dentinario listo para su obturación.²

Finalidades de la preparación biomecánica en las Necropulpectomías

- Neutralizar el contenido tóxico de la cavidad pulpar.
- Remover por medio mecánico y químico los microorganismos y sus productos, reduciendo la microflora del conducto radicular.
- Remover restos necróticos, dentina infectada y emblandecida.
- Combatir la infección del sistema de conductos dando inicio a la medicación tópica entre sesiones.
- Realizar el desbridamiento del foramen.
- Preparar el escalón apical.
- Ensanchar y alisar las paredes dentinarias del conducto radicular, dándole forma cónica.
- Remover por medio mecánico y químico los microorganismos y sus productos, reduciendo la microflora del conducto radicular.

² LEONARDO Mario Roberto, Endodoncia: tratamiento de conductos radiculares – principios técnicos y biológicos, Pág. 436

- Rectificar lo más posible las curvaturas del conducto radicular. Remover virutas de dentina y el “*smear layer*”, permitiendo mayor contacto de los materiales obturadores con las paredes dentinarias del conducto radicular.
- Disminuir la tensión superficial de las paredes dentinarias.
- Dejar el conducto dentinario listo para su obturación.³

3.1.1.1 Recursos utilizados para la preparación biomecánica.

a. Medios mecánicos

Está comprendida por los recursos y técnicas utilizadas para la instrumentación de los conductos, es decir limas, ensanchadores, fresas, etc.

1. Instrumentos convencionales
2. instrumentos rotatorios

b. Medios físicos

1. Irrigación, aspiración e inundación

Esta etapa es realizada con los medios químicos a usarse, es decir con las soluciones de irrigación.

La Asociación Americana de Endodoncistas define la irrigación como el lavado mediante una corriente de fluido. En Endodoncia la irrigación intraconducto facilita la remoción física de materiales del interior de los conductos e introducción de químicos con actividad antimicrobiana, desmineralizante, disolutiva del tejido, blanqueante, desodorante y para el control de la hemorragia.⁴

³ LEONARDO Mario Roberto, Endodoncia: tratamiento de conductos radiculares – principios técnicos y biológicos, Pág. 436 – 437.

⁴ RIVAS Muñoz Ricardo, Notas para el estudio de endodoncia, LIMPIEZA Y CONFORMACIÓN DEL CONDUCTO RADICULAR. <http://www.iztacala.unam.mx>

En resumen este procedimiento busca la limpieza, desinfección y lubricación de los conductos radiculares.⁵

2. Momento de la irrigación

- Antes de la instrumentación, en el caso de conductos infectados, para obtener acción neutralizante de los productos tóxicos y en el caso de dientes vitales para facilitar la penetración aséptica de los instrumentos mecánicos.
- Durante la instrumentación, para dar acción lubricante y facilitar la instrumentación.
- Después de la instrumentación, para remover los productos resultantes de la instrumentación.⁶

3. Técnicas de irrigación

- Técnica manual

Esta técnica consiste básicamente en introducir la aguja de elección dentro del conducto radicular, llevando la solución de irrigación a las proximidades del ápice, sin penetrarlo, para ello se debe disponer de agujas del diámetro adecuado según el conducto a irrigar y que sean precurvadas para que puedan alcanzar el tercio apical o entre 3 – 4 mm del límite de la preparación, entonces se debe imprimir ligeros movimientos de vaivén, inyectando entre 2 a 3 ml de solución, sin ejercer presión.

Este procedimiento se realizara después del uso de cada instrumento y a la vez que se hace la aspiración. Además antes de usar el siguiente instrumento se debe inundar el conducto para que este trabaje lubricado.⁷

⁵ SOARES José, GOLDBERG Fernando, Endodoncia: técnica y fundamentos, pág 127

⁶ LEONARDO Mario Roberto, Endodoncia: tratamiento de conductos radiculares – principios técnicos y biológicos, Pág. 474.

⁷ SOARES José, GOLDBERG Fernando, Endodoncia: técnica y fundamentos, pág 129

- Técnica ultrasónica

Los sistemas ultrasónicos tienen la particularidad de asociar un agente físico (las ondas acústicas) y un agente químico (la solución irrigante). Aportada abundantemente y de forma continua durante toda la instrumentación, la solución irrigante se activa por las ondas acústicas y desencadena efectos hidrodinámicos. Este principio se adapta a los criterios de calidad de una buena irrigación: cantidad, penetración, renovación y agitación.

La cavitación consiste en que las ondas del ultrasonido mueven la solución contra la superficie del objeto que va a ser limpiado; las ondas se mueven tanto que forman un vacío, las paredes opuestas de la micro burbuja se polarizan y cuando se colapsan o chocan contra algún artefacto hay una micro descarga eléctrica y se produce energía. En ese momento existe una presión local de cientos de atmósferas; esto, teóricamente, saca todo el material necrótico a la superficie. Bajo la acción de la onda de choque radiante, se produce una erosión mecánica de las paredes del conducto así como una notable elevación de la temperatura. Debe también señalarse la posibilidad de rotura de las membranas celulares y la formación de radicales libres. La agitación hidrodinámica de la solución forma micro corrientes acústicas rápidas sin formación de cavidades. Estas turbulencias originan fuerzas hidrodinámicas de cizallamiento que provocan:

- efectos mecánicos: dispersión, fragmentación.
- efectos químicos: modificación de enlaces moleculares, inactivaciones enzimáticas, ionización
- efectos biológicos: rotura de membranas celulares⁸

⁸ RIVAS Muñoz Ricardo, Notas para el estudio de endodoncia, LIMPIEZA Y CONFORMACIÓN DEL CONDUCTO RADICULAR. <http://www.iztacala.unam.mx>

c. Medios químicos

Las soluciones irrigantes constituyen los medios químicos en la preparación biomecánica, es así que su elección no debe ser aleatoria.

Propiedades que debe tener una solución irrigadora ideal

1. Máximo efecto antibacterial, destruyendo los microorganismos y neutralizando sus productos antigénicos Bactericida o bacteriostático, debe actuar contra hongos y esporas.
2. Máxima capacidad de disolución del tejido pulpar vital y necrótico, tanto en el conducto principal como en todas las irregularidades del sistema de conductos
3. Poseer pocos o nulos efectos tóxicos sobre el tejido periapical, lo que sin embargo contradice su capacidad de disolver matriz orgánica así como su acción antibacteriana
4. Ser lubricante, para facilitar el deslizamiento de los instrumentos y mejorar su capacidad de corte
5. Ser biocompatible con los tejidos dentarios y periapicales
6. No pigmentar la estructura dentaria
7. Tener acción blanqueadora por la presencia de oxígeno
8. Poseer baja tensión superficial, para facilitar el flujo mecánico de la solución y la humectancia de las paredes dentinarias
9. Capacidad para eliminar la capa de barrillo dentinal de las paredes del conducto
10. No debe ser costoso y deber ser de fácil disponibilidad
11. Otros factores: aplicación simple, tiempo de vida adecuado, fácil almacenaje, acción rápida y sostenida.

No existe la solución ideal, sin embargo hay algunas que reúnen varias características.

1. Hipoclorito de sodio

Definición

El hipoclorito de sodio ha sido definido por la Asociación Americana de Endodoncia como un líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino y con fuerte olor a cloro, que presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos, además de ser un potente agente antimicrobiano.

Estructura

Químicamente, el hipoclorito de sodio (NaOCl), es una sal formada de la unión de dos compuestos químicos, el ácido hipocloroso y el hidróxido de sodio, que presenta como características principales sus propiedades oxidantes. La fórmula química de este compuesto es la siguiente:



Propiedades

Al hipoclorito de sodio, se le han atribuido varias propiedades beneficiosas durante la terapia endodóntica:

1. Desbridamiento, la irrigación con NaOCl expulsa los detritos generados por la preparación biomecánica de los conductos.
2. Lubricación, humedece las paredes del conducto radicular favoreciendo la acción de los instrumentos.
3. Destrucción de microorganismos, se ha demostrado que esta solución es un agente antimicrobiano muy eficaz, puede eliminar todos los microorganismos de los conductos radiculares, incluyendo virus y bacterias que se forman por esporas. El ácido hipocloroso ejerce su

efecto por la oxidación de los grupos sulfhidrilos de los sistemas enzimáticos de las bacterias, produciendo desorganización de importantes reacciones metabólicas, resultando en la muerte de la bacteria. Por otro lado, el pH alcalino (11,8) del NaOCl neutraliza la acidez del medio y por lo tanto crea un ambiente inadecuado para el desarrollo bacteriano; sin embargo, ciertos autores consideran que esta propiedad añade un componente tóxico a la solución haciendo el NaOCl más cáustico.

4. Disolución de tejidos, es el disolvente más eficaz del tejido pulpar. Una pulpa puede ser disuelta en un tiempo de 20 minutos a 2 horas. La eficacia de la disolución del hipoclorito de sodio se ve influida por la integridad estructural de los componentes del tejido conjuntivo de la pulpa. Si la pulpa está descompuesta, los restos de tejidos se disuelven rápidamente, si está vital y hay poca degradación estructural, el NaOCl necesita más tiempo para disolver los restos. El hipoclorito reacciona con residuos orgánicos en el conducto radicular y de esta forma facilita la limpieza, sin embargo, esta reacción inactiva químicamente al NaOCl y reduce su capacidad antibacteriana, por esto una solución fresca de NaOCl debe ser aplicada frecuentemente dentro del conducto radicular para reactivar la reacción química y la remoción de restos.
5. Baja tensión superficial, gracias a esta propiedad penetra a todas las concavidades del conducto radicular, al mismo tiempo que crea las condiciones para la mayor eficacia del medicamento aplicado de forma tópica.⁹

Una de sus mayores desventajas es que no elimina la capa de barro dentinario producido durante la instrumentación.

⁹ Edna Jaquez Bairan, Maytté Marcano Caldera, Una Visión Actualizada del Uso del Hipoclorito de Sodio en Endodoncia. <http://www.carlosboveda.com/>

Mecanismo de acción

Las acciones del hipoclorito de sodio operan mediante tres mecanismos:

1. Saponificación

Actúa como un solvente orgánico que degrada los ácidos grasos hacia sales ácidas grasosas (jabón) y glicerol (alcohol), reduce la tensión superficial de la solución remanente.

2. Neutralización

Neutraliza aminoácidos formando agua y sal.

3. Cloraminación

La reacción entre el cloro y el grupo amino forma cloraminas que interfieren en el metabolismo celular. El cloro posee una acción antimicrobiana inhibiendo enzimas esenciales de las bacterias por medio de oxidación.¹⁰

Se ha utilizado a concentraciones variables, desde 0.5 a 6%. El aumento de concentración aumenta sus propiedades solventes y antibacterianas, pero también incrementa el efecto tóxico si alcanza la región periapical.

¹¹

2. Clorhexidina

Definición

La clorhexidina fue desarrollada en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos que realizaban un estudio sobre la malaria. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibiguanidas, que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para heridas de la piel. Posteriormente

¹⁰ ESTRELA, Carlos, Ciencia endodóntica, pag. 418.

¹¹ Arias Moliz Teresa, Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* a soluciones irrigadoras de uso endodóntico. Pag. 17.

comenzó a usarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano. En odontología se utilizó inicialmente para desinfección de la boca y endodoncia.

Estructura

La clorhexidina es una molécula bicatiónica simétrica consistente en dos anillos: cuatro clorfenil y dos grupos bisguanida conectados por una cadena central de decametileno (clorfenil bisguanida) 1, 2, 3.

Es esta naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos.¹²

Propiedades

- efecto bacteriostático: Se une fuertemente a la membrana celular bacteriana, lo que a bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio.
- Efecto bactericida: en concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular.
- La clorhexidina es eficaz contra microorganismos grampositivos, gramnegativos, levaduras, aerobios o anaerobios y facultativos¹³
- La clorhexidina absorbida se libera gradualmente, esto puede ocurrir durante las 12 a 24 hs. Después de su absorción con lo que se evita la colonización bacteriana en ese tiempo (sustantividad).
- Es menos tóxica para el tejido periapical que otras soluciones empleadas como el hipoclorito de sodio.

¹² Mileydi de la C. Torres López, Marcial Díaz Álvarez, Alina Acosta Morales, La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en; la estomatología.

¹³ RIVAS Muñoz Ricardo, Notas para el estudio de endodoncia, LIMPIEZA Y CONFORMACIÓN DEL CONDUCTO RADICULAR. <http://www.iztacala.unam.mx>

- no disuelve tejido necrótico remanente.

Mecanismo de acción

1. la absorción de clorhexidina dentro de la pared celular de los microorganismos produciendo filtración de los componentes intercelulares.
2. daña las barreras de permeabilidad en la pared celular, originando trastornos metabólicos de las bacterias.
3. otra de sus propiedades consiste en la precipitación proteica en el citoplasma bacteriano, inactivando sus procesos reproductivos y vitales.¹⁴

Se ha probado a diferentes concentraciones, siendo las más usadas 0.12%, 0.2% y 2 %.¹⁵

3. Cetrimida

Definición

La Cetrimida es un surfactante catiónico derivado de amonio cuaternario con acción antiséptica y bactericida que actúa de forma más marcada sobre bacterias Gram+ que sobre Gram-, y también sobre algunos hongos y virus, aunque no frente a esporas.

Estructura

Polvo blanco o casi blanco, voluminoso y fluente. Fácilmente soluble en agua y en etanol al 96%, está formada principalmente por bromuro de cetil – trimetilamonio.

¹⁴ www.encolombia.com/odontologia/odontonet/monografiaclorhexidina.htm

¹⁵ Arias Moliz Teresa, Susceptibilidad de Enterococcus faecalis a soluciones irrigadoras de uso endodóntico. Pag. 18.

Propiedades

- Reduce la tensión superficial de los líquidos, facilitando el acceso de estos, en lugares como los tubulos dentinarios.
- Estos agentes son adsorbidos sobre la superficie celular generando destrucción de las células al aumentar la permeabilidad de la membrana celular lipídica. Por tanto, la muerte de los microorganismos es debida a la pérdida de sustancias esenciales para la vida celular.
- Las superficies desinfectadas con amonios cuaternarios presentan una película bacteriostática debida a la absorción del desinfectante en la superficie. Esta película evita el crecimiento subsiguiente de las bacterias residuales.
- Son poco afectados por la presencia de restos orgánicos, no son corrosivos, si bien atacan a ciertos tipos de gomas y no son irritantes de la piel, salvo a grandes concentraciones, por ello se pueden manipular con bastante seguridad.
- Comportarse como agente humectante, se disuelve en el agua, haciendo disminuir el ángulo de contacto entre el líquido y la superficie en que se apoya; ayudando a desplazar la fase aérea de la superficie, reemplazándola por otra líquida (otro irrigante en este caso); potenciando el efecto del irrigante principal.
- Es poco irritante.¹⁶

Mecanismo de acción

Tienen acción bactericida a tres niveles:

- alteración de la membrana celular.

¹⁶ Arias Moliz Teresa, Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* a soluciones irrigadoras de uso endodóntico, pag. 30 – 31.

- desnaturalización de proteínas
- inactivación enzimática.

Estos mecanismos de acción parecen ser debidos a su estructura anfipática; gracias a las cadenas carbonadas (hidrófobas) penetra en las membranas, mientras que a través del nitrógeno catiónico (hidrófilo) interacciona con los fosfatos de los fosfolípidos. Por esta alteración se produce una salida del material citoplasmático hacia el exterior y la alteración celular. Son activos a cualquier pH, pero su pH óptimo de actuación es el alcalino.¹⁷

3.1.2. Concepto de Biofilm

Un biofilm es una comunidad de microorganismos sésiles que se caracteriza por células que están irreversiblemente unidos a un sustrato o de la interfaz o entre sí, están incrustados en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que han producido ellos mismos, y exhiben un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción de genes, que los microorganismos en estado planctónico no presentan.¹⁸

3.1.2.1. Mecanismos de formación de biofilm

Una de las primeras características que podría sorprender, es que las bacterias forman biofilms preferentemente en ambientes muy hostiles, donde Bacterias planctónicas pueden adherirse a las superficies e iniciar la formación de biopelículas en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes, con alta competitividad bacteriana e incluso con falta de oxígeno¹⁹

Durante décadas, el estudio de la actividad antimicrobiana de las soluciones irrigantes frente a microorganismos implicados en infecciones endodónticas se ha llevado a cabo en cultivos planctónicos o en suspensión. Este cultivo

¹⁷ Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and Chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. *J Endod* 2006; 32:138-41.

¹⁸ Jason M. Duggan, DDS, and Christine M. Sedgley, PhD, Biofilm Formation of Oral and Endodontic *Enterococcus faecalis*

¹⁹ Rodney M. Donlan, J. William Costerton, Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms.

tradicional se basa en la inoculación de una bacteria en un caldo, en el que las bacterias disponen de oxígeno y alimento de manera uniforme. En estas condiciones óptimas de crecimiento, las bacterias se encuentran nadando libremente en el medio líquido. Sin embargo, estas condiciones no reflejan las circunstancias reales en que las bacterias crecen, ya que se organizan formando biofilms en las paredes de los conductos radiculares.

Posiblemente, la primera identificación de biofilms en conductos radiculares infectados se deba a Nair quien examinó el contenido de los conductos de 31 dientes, que tenían caries coronales y procesos inflamatorios periapicales, mediante microscopía electrónica de transmisión. En ellos observó poca homogeneidad junto a la presencia de agregados densos de microorganismos pegados a las paredes del conducto, formando delgadas capas. Los espacios entre microorganismos estaban rellenos de un material amorfo que fue interpretado como una matriz extracelular de origen bacteriano. Cuando esto ocurría, las condensaciones bacterianas mostraban una estructura empalizada similar a la placa dental.

En el biofilm, la comunicación célula a célula es esencial en el desarrollo y mantenimiento de la misma. La adherencia de una bacteria a la superficie es una señal para la expresión de genes específicos del biofilm. Estos genes codifican proteínas que sintetizan moléculas que actúan como señales para la unión célula a célula, y el inicio de formación de polisacáridos. A medida que se van acumulando, estas moléculas actúan como agentes quimiotácticos e inductores de un mecanismo denominado “percepción del quorum” (quorum sensing) dando lugar al biofilm.

Después del contacto inicial con la superficie, los microorganismos comienzan a producir delgadas fibras que con el tiempo se vuelven más densas hasta que se convierten en una capa de polisacáridos extracelulares. Este puede atraer nutrientes del medio ambiente, que permiten a la bacteria multiplicarse, el proceso de unión consiste en la adsorción, consolidación y colonización, otro factor que se debe tener en cuenta son las características de la superficie que también influyen en la adherencia.

Esta biocapa bacteriana puede adquirir la capacidad de sobrevivir a los procesos de desinfección ya que como consecuencia de la adherencia el microorganismo se vuelve más resistente. Las bacterias se van volviendo más autóctonas del ambiente.

Estos microorganismos pueden coexistir formando conglomerados que les ha permitido aumentar su resistencia frente a los desinfectantes tradicionales.

Las funciones que ejercen los Polímeros Extracelulares (EPS) son:

- Permitir, establecer y mantener asociaciones entre microorganismos y entre estos y su medio ambiente.
- Constituyen una fuente de reserva de energía y carbono.
- Protegen a las exo-enzimas secretadas por la bacteria que no están en contacto directo con la membrana celular, y cuya función es la de hidrolizar moléculas orgánicas de alto peso molecular.
- Actúan como protector ya que los exopolisacáridos confieren a la célula bacteriana una protección frente a la desecación, dada la capacidad de estos polímeros de retener agua.
- Se comportan como una esponja donde quedan atrapadas y concentradas moléculas orgánicas e iones del medio acuoso. Este proceso favorece la concentración de nutrientes bacterianos en el interior del biofilm.
- Confieren a la célula protección frente a agentes antimicrobianos.²⁰

3.1.2.2. Resistencia a agentes antimicrobianos

La naturaleza de la estructura de la biopelícula y los atributos fisiológicos de organismos biofilm confiere una resistencia inherente a los agentes antimicrobianos, si estos agentes antimicrobianos son antibióticos, desinfectantes, germicidas²¹

²⁰ Arias Moliz Teresa, Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* a soluciones irrigadoras de uso endodóntico, pag 12 – 13.

²¹ Rodney M. Donlan¹, J. William Costerton, Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms.

Esto debido a:

- El biofilm es una barrera física que impide la difusión de agentes tóxicos. El mecanismo de resistencia es que la matriz crea un impedimento para que el agente antimicrobiano difunda hasta las bacterias.
- El número de bacterias concentradas en un biofilm es muy superior y ofrece la posibilidad de liberar enzimas en concentraciones mayores a las que podrían ser liberadas en medio libre; estas enzimas serían las responsables de modificar los agentes microbianos y transformarlos a formas no tóxicas.
- Desde el punto de vista químico, el biofilm posee grupos químicos que por sí solos neutralizan el agente antimicrobiano.
- El bajo nivel metabólico en un biofilm aumenta la resistencia contra agentes biocidas debido a que la principal función no es multiplicarse, sino asegurar la persistencia del biofilm, lo que supone aunar esfuerzos para contrarrestar aquello que le es tóxico.
- Los microorganismos que coexisten con un mismo hábitat ponen en marcha la maquinaria genética capaz de neutralizar el agente microbiano, de forma que incluso se puede llegar a decir que se produce un cambio en el fenotipo del biofilm.²²

²² Arias Moliz Teresa, Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* a soluciones irrigadoras de uso endodóntico, pag 14.

3.1.3. Enterococcus Faecalis

3.1.3.1. Definición

Es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado. El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros y es habitante normal del tracto gastrointestinal humano.²³

E. faecalis es la especie más representativa y significativa del género *Enterococcus*; constituye un patógeno oportunista implicado en la persistencia de la infección, influyendo en pronóstico del tratamiento de conductos. Se aísla frecuentemente en infecciones endodónticas refractarias gracias a la gran variedad de factores de virulencia: enzimas líticas, citolisinas, sustancias de agregación, feromonas y ácidos lipoteicoicos. Pueden adherirse a las células del hospedador y expresar proteínas que compiten con otras células alterando la respuesta del mismo.

3.1.3.2. Características

- Presenta gran variedad de polimorfismos genéticos
- Produce gelatinasa y proteínas de unión al colágeno (Ace) que ayuda a unirse a dentina.
- Tamaño suficientemente pequeño como para invadir así como vivir en los túbulos dentinarios.
- Puede subsistir largas temporadas de escasez de nutrientes y utilizar el suero como fuente de alimento. Además, el suero procedente del hueso alveolar y del ligamento periodontal le sirve de ayuda para unirse al colágeno tipo I
- Resiste a la medicación intraconducto con hidróxido de calcio durante más de 10 días en el interior de los túbulos dentinarios

²³ Germán Pardi, Carolina Guilarte, Elba Inés Cardozo, Elsi Natalí Briceño, DETECCIÓN DE *Enterococcus faecalis* EN DIENTES CON FRACASO EN EL TRATAMIENTO ENDODÓNTICO

- Por último, crece formando biofilms siendo hasta 1000 veces más resistente a la fagocitosis, anticuerpos y antimicrobianos que cuando crece en forma planctónica.²⁴

3.1.3.3. Factores de virulencia

Enterococcus faecalis presenta diferentes elementos de virulencia que, en su conjunto, expresan la capacidad patogénica de esta bacteria. Entre los más recurrentes factores citados en infecciones humanas se encuentran la proteína de superficie extracelular (Esp), la cual promueve la adhesión, colonización y evasión del sistema inmune, también participa en la generación de biopelícula y aparentemente cumple un rol en la resistencia antimicrobiana; citolisina (Cyl), también denominada hemolisina, que posee propiedades β -hemolíticas en humanos y es bactericida contra bacterias grampositivas; gelatinasa (Gel) que provee de nutrientes a la bacteria degradando el tejido del hospedero y además presenta algún tipo de función en la formación de biopelícula; hialuronidasa que actúa despolimerizando la molécula de mucopolisacárido del tejido conectivo lo que facilita la diseminación de la bacteria; determinantes de feromonas (Eep) son capaces de modular de modo importante la respuesta inflamatoria *in vivo*; antígeno A (EfaA) que se asocia a la adherencia de la bacteria tanto a células bióticas y superficies abióticas, además de participar en ciertas etapas de la formación de biopelícula; proteína de unión a colágeno (Ace) que exhibe una fuerte similitud con la proteína del mismo nombre producida por *Staphylococcus aureus*, la cual posee la capacidad de unirse al colágeno de la dentina.²⁵

3.1.3.4. Prevalencia en infecciones del conducto radicular

E. faecalis es un microorganismo que forma parte de la microbiota del hombre y se encuentra comúnmente en la cavidad oral. La prevalencia es mayor en

²⁴ Arias Moliz Teresa, Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* a soluciones irrigadoras de uso endodóntico, pag 10

²⁵ Carlos Padilla E., María Núñez A., Andrés Padilla G. y Olga Lobos G. Genes de virulencia y bacteriocinas en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas desde diferentes muestras clínicas en la Región del Maule, Chile

pacientes que están recibiendo un tratamiento o re-tratamiento endodóntico, en comparación con aquellos que no están siendo tratados.

Se aísla tanto en infecciones endodónticas primarias como en secundarias o persistentes. En las infecciones primarias se encuentra entre un 4 - 40 % y su presencia se asocia a periodontitis apicales crónicas asintomáticas que a periodontitis apicales agudas y absceso periapicales: La presencia de *E. faecalis* en infecciones endodónticas secundarias es 9 veces mayor que en las primarias y la prevalencia oscila entre 24-77 %

La mayor prevalencia en dientes con fracaso endodóntico pone de manifiesto su habilidad para sobrevivir en condiciones ambientales duras como las existentes en dichas situaciones. Además ha sido encontrado con frecuencia como el único microorganismo presente en conductos obturados con lesiones periapicales.

3.1.4. Biofilm de *Enterococcus faecalis*.

La capacidad de *E. faecalis* para crecer formando biofilms en las paredes del conducto radicular ha sido demostrada *in vitro*, lo que le confiere mayor resistencia a la terapia endodóntica. De este modo tiene la habilidad de sobrevivir a los procedimientos de desinfección química – mecánica, resistir a las medicaciones intraconducto y/o adaptarse al ambiente en el cual la disponibilidad de nutrientes es escasa o limitada, pudiendo permanecer remanente en un conducto adecuadamente obturado. No obstante, bajo estas condiciones, los microorganismos residuales que habitan los túbulos dentinarios son frecuentemente confinados a un espacio reducido por los materiales de obturación y están expuestos a condiciones de crecimiento adverso.

Sin embargo, si el conducto radicular está pobremente obturado, o el cemento sellador se disuelve, se formarán intersticios y llegarán nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano, favoreciendo la formación de Biopelícula. En dientes sobre-obturados, el sellador alrededor del foramen apical podría no solidificarse y disolverse por el contacto del fluido periapical.

Los microorganismos remanentes, entre ellos el *E. faecalis* pueden colonizar el espacio dejado por el sellador y formar biofilms extra-radiculares a través de la extrusión de la gutapercha. La filtración bacteriana no solo ocurre por vía apical, sino también por vía coronal como sucede cuando existen defectos en el sellado marginal de las restauraciones, infección periodontal, así como traumatismos.²⁶



²⁶ Arias Moliz Teresa, Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* a soluciones irrigadoras de uso endodóntico, pag. 15.

3.2. Revisión de antecedentes investigativos

3.2.1. Internacionales

a. **Título:** Erradicación de biofilm de *Enterococcus faecalis* por cetrimida y clorhexidina.

Autores: Maria Teresa Arias-Moliz, Dds, Phd, Carmen Maria Ferrer-Luque, Dds, Md, Phd, Maria Paloma Gonzalez-Rodriguez, Dds, Phd Mariano Jose´ Valderrama, Phd, And Pilar Baca, Dds, Md, Phd

Introducción: *Enterococcus faecalis* es la bacteria más comúnmente aislada de conductos radiculares de los dientes con periodontitis periapical persistentes. Su capacidad para crecer como un biofilm impide la eliminación de *E. faecalis* mediante el uso de soluciones de irrigación. El propósito de este estudio fue evaluar la eficacia de cetrimida y clorhexidina (CHX), solos o en asociación, en combinada y forma alterna, en la erradicación de biopelículas de *E. faecalis*.

Métodos: Las biopelículas que crecen en la MBEC-dispositivo de alto rendimiento por 24 horas se expusieron a soluciones de irrigación durante 30 segundos y 1 y 2 minutos. Erradicación era definida como 100% de destrucción de las bacterias del biofilm. La t de Student se utilizó la prueba para comparar la eficacia de las asociaciones de los 2 irrigantes.

Resultados: Cetrimida erradico las biopelículas de *E. faecalis* en concentraciones de 0,5%, 0,0312%, y 0,0078% a los 30 segundos y 1 y 2 minutos de contacto, respectivamente. CHX no erradico las biopelículas en ninguna de las concentraciones (concentración inicial de 4%) o tiempos ensayados. La asociación de 0,1% y 0,05% de cetrimida con cualquier concentración de CHX, ya sea en combinada o aplicación

alterna, erradico efectivamente el biofilm de *E. faecalis* en todos los tiempos de contacto probados. También se logró erradicación con 0,02% y 0,01% cetrimida los 2 minutos. El análisis estadístico reveló significativamente mejores resultados con la alternancia en lugar de uso combinado de cetrimida y CHX ($P < 0,05$).

Conclusiones: El uso asociado de cetrimida y CHX proporcionado mejores resultados que sus aplicaciones como agentes únicos contra *E. faecalis* biopelículas, y la aplicación alterna fue significativamente más eficaz que el combinado modo de aplicación.

b. Título: Actividad residual de cetrimida y clorhexidina en canales de raíces infectadas con *Enterococcus faecalis*.

Autores: Carmen Maria Ferrer-Luque, Maria Teresa Arias-Moliz, Matilde Ruiz-Linares, Maria Elena Martinez Garcia And Pilar Baca

Régimen de irrigación final efectivo es un paso importante con el fin de lograr una mejor desinfección y garantizar efectos antimicrobianos residuales después de la preparación del conducto radicular. El objetivo de este estudio fue comparar la actividad antimicrobiana residual de 0,2% de cetrimida y 0,2% y Clorhexidina al 2% en canales de la raíz infectados con *Enterococcus faecalis*. Las biopelículas de *E. faecalis* fueron cultivadas en las raíces unirradiculares para 4 semanas. Después de la preparación del conducto radicular, conductos radiculares fueron regadas con ácido etilendiaminotetraacético 17% (EDTA) para eliminar el frotis capa. Las raíces fueron divididos aleatoriamente en tres grupos experimentales (N526) de acuerdo con la solución de irrigación final: Grupo I, 5 ml 0,2% de cetrimida; Grupo II, 5 ml de 0,2% de clorhexidina; y Grupo

III, 5 ml clorhexidina al 2%. Las muestras fueron recolectadas durante 50 días a denotar la presencia de crecimiento bacteriano. La proporción de muestras un grown más de 50 días se evaluó mediante el no paramétrico

El análisis de supervivencia de Kaplan-Meier. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de log-rank y el nivel de significación estadística se fijó en P, 0,05. El valor más alto de supervivencia fue encontrado con clorhexidina al 2%, mostrando diferencias estadísticamente significativas de los otros dos grupos. En 50 días, se detectó el crecimiento de E. faecalis en 69,23% de los sujetos de los grupos I y II, y, en 34,61% de los especímenes

Grupo III.

No hubo diferencias significativas entre 0,2% cetrimida y 0,2% de clorhexidina. Irrigación final con 2% clorhexidina mostró mayor actividad residual que 0,2% de clorhexidina y 0,2% de cetrimida en canales de la raíz infectados con E. faecalis.

c. Título: Actividad residual y antimicrobiana de protocolos de irrigación final en biofilm de Enterococcus faecalis en dentina.

Autores: Pilar Baca, Dds, Md, Phd, Pilar Junco, Dds, Md, Phd, Maria Teresa Arias-Moliz, Dds, Phd, †Maria Palomagonz_Alez-Rodriguez, Dds, Phd, And Carmen Maria Ferrer-Luque, Dds, Md, Phd

Introducción: El uso de soluciones de irrigación del conducto radicular ejerciendo la actividad antimicrobiana y residual prolongada es deseable con el fin de controlar la infección dentina y retrasar la reinfección del conducto radicular. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana residual y la capacidad para erradicar Enterococcus faecalis

biofilm de diferentes soluciones de irrigación, solo y en combinación, en una prueba de dentina volumétrica.

Métodos: Soluciones de 2,5% de hipoclorito de sodio (NaOCl), 2% clorhexidina (CHX), 0,2% cetrimida (CTR), el 17% ethylendiaminetetraacetic (EDTA), 7% de ácido maleico (MA), y los regímenes de 2.5% NaOCl seguido por 17% de EDTA o 7% MA y 0,2% CTR o 2% CHX se utilizaron para determinar su actividad residual mediante la exposición de la dentina tratada cuadas de *E. faecalis* durante 24 horas. La actividad antimicrobiana se ensayó en 3-semana formación de biopelículas sobre dentina bloques. Resultados de la actividad antimicrobiana residual y la actividad se expresaron, respectivamente, como la inhibición porcentaje de la formación de biopelículas y el porcentaje de muertes de biofilm. Resultados: Un CHX 2% y solución de 0,2% CTR mostró una inhibición de biopelículas 100%; 2,5% NaOCl mostró la actividad residual más bajo (18,10%). El porcentaje de eliminación de 2,5% y 0,2% de NaOCl CTR fue del 100% seguido de un 7% de MA y 2% CHX, mientras que el 17% de EDTA fue el menos eficaz (44%). Soluciones de 7% o MA 17% de EDTA seguido por el 0,2% de CTR o 2% CHX mostró 100% de actividad residual y antimicrobiana.

Conclusiones: Una solución de 0,2% CTR solo y las combinaciones en que el 2% o CHX 0,2% CTR fue la solución de irrigación final, que alcanzó el máximo efecto residual y actividad antimicrobiana.

d. Título: Evaluación comparativa de eficacia la antimicrobiana de hipoclorito de sodio, MTAD y tetraclean contra biofilm de *Enterococcus faecalis*.

Autores: Luciano Giardino, Md, Dds, Emanule Ambu, Md, Dds,† Enrico Savoldi, Md, Dds,Roberto Rimondini, Phd, Ms,‡ Clara Cassanelli, Md,§ And Eugenio A. Debbia, Md§

El objetivo de este estudio fue comparar la eficacia antimicrobiano de 5.25% NaOCl, Biopure MTAD (Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN), y Tetraclean (Ogna Laboratori Farmaceutici, Milano, Italia) contra biofilm *Enterococcus faecalis* generada en filtros de membrana nitrato de celulosa. Después de la incubación, los filtros de membrana se transfirieron en tubos que contenían 5 ml de la agente de prueba de la solución antimicrobiana seleccionado o NaCl 0,9% (control positivo) y se incubaron durante 5, 30, y 60 minutos a 20 ° C. Después de cada período de tiempo, la prueba agentes se agitaron en vórtex durante 60 segundos para resuspender los microorganismos. Se generaron diez diluciones seriadas en fluido d transporte reducido. Cada dilución se inoculo en placas con infusión corazón cerebro. Las placas a continuación, se incubaron durante 48 horas en una atmósfera aeróbicaa 37 ° C y las unidades formadoras de colonias por membranas se calcularon. El análisis estadístico mostró que sólo

5.25% NaOCl puede disgregar y eliminar el biofilm en cada vez; Sin embargo, el tratamiento con Tetraclean causada un alto grado de disgregación biofilm en cada considerado intervalos de tiempo en comparación con MTAD.

3.2.2. Nacional

- a. **Título:** Efectividad de la asociación ceftriaxona-clorhexidina 15% / 0.15% frente a clorhexidina 2% en la erradicación de biofilms de *Enterococcus faecalis*,

Autor: DJASMIN PORTURAS ARAUJO

El propósito de este estudio fue determinar la efectividad de la asociación de Ceftriaxona -Clorhexidina (15% / 0.15%) frente a Clorhexidina 2%; en la erradicación de biofilms de *Enterococcus faecalis* in vitro.

La metodología usada para este fin fue la creación de biofilms, en láminas portaobjeto de 48 horas de incubación a 37 °C en condiciones aerobias a partir de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en caldo BHI, las cuales fueron sometidas a los irrigantes testados durante los periodos de tiempo de 1, 3 y 5 minutos, respectivamente. Se llevaron a cabo dos grupos de experimentos independientes, más un control negativo (suero fisiológico); en tres repeticiones para cada irrigante y tiempo evaluado. Los irrigantes evaluados fueron: Ceftriaxona-Clorhexidina (15%/0.15%) "SAFEBLON", Clorhexidina (2%), y Suero Fisiológico. Luego del contacto con los irrigantes, los biofilms fueron sembrados en Agar Tripticosa Soya (TSA) e incubados durante 24 horas a 37 °C para la cuantificación final de UFC/mL y así determinar el porcentaje de inhibición bacteriana y consecuentemente la efectividad de los irrigantes.

El resultado obtenido muestra que, el porcentaje de inhibición bacteriana de Biofilms de *Enterococcus faecalis* con Ceftriaxona-Clorhexidina (15%/0.15%) fue 99,99%; con Clorhexidina (2%), fue 100% y con Suero Fisiológico (control negativo) fluctuó entre 24% y 31%; durante los tiempos evaluados de 1,3 y 5 minutos.

Por lo tanto, se concluye que no existe diferencia significativa en la Erradicación de biofilms de *Enterococcus faecalis*; mediante la aplicación de la asociación Cetrimida-Clorhexidina (15%/1.5%) y Clorhexidina 2% a cualquiera de los tres tiempos experimentados; permitiéndose utilizar indistintamente menor concentración de Clorhexidina de 2% al 0.15%, mediante el uso coadyuvante de Cetrimida 15%.

4. HIPÓTESIS

Dado que: se ha demostrado que una de las razones del fracaso del tratamiento endodóntico, es la presencia de biofilms bacterianos y que las soluciones irrigantes usadas en la preparación biomecánica deben tener no solo actividad antimicrobiana sino también capacidad de eliminación de biofilm.

Es probable que: las solución de CETRIMIDA 0.5% + CLORHEXIDINA 2%, tenga mejor efecto para eliminación de biofilm de *Enterococcus faecalis* en comparación con las soluciones de HIPOCLORITO DE SODIO 5.25% Y CLORHEXIDINA 2%.



CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

II.- PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICA, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1 Técnica

a. Precisión de la técnica

Se utilizó la técnica de observación laboratorial para determinar el crecimiento de *Enterococcus faecalis*

b. Esquematización

VARIABLES	INDICADORES	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Crecimiento de <i>Enterococcus faecalis</i>	Grado de absorbancia	Observación laboratorial	Ficha de observación de laboratorio

c. Procedimiento

c.1. Activación de la cepa *Enterococcus faecalis*

Se obtuvo una cepa certificada de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, del laboratorio Genlab Peru. Todos los procedimientos se realizaron en cámara de flujo laminar, con el fin de obtener condiciones totalmente asépticas. La activación se realizó en caldo BHI, que fue preparado de acuerdo a las consideraciones del fabricante y se sometió a esterilización mediante autoclave a 121 °C durante 1 hora.

Se obtuvo 3 tubos con la cepa original, que se llevó a cámara de anaerobiosis con 7 % de CO₂ durante 24 horas.

c.2. Repique de la cepa *Enterococcus faecalis*

Al cabo de este tiempo se observó marcada turbidez, confirmando el correcto crecimiento bacteriano, se procedió a sembrar en estría simple, en placas Petri estériles conteniendo 20 ml de agar KF que fue preparado de acuerdo a las consideraciones del fabricante.

c.3. Preparación de escala de Mc Farland y solución

Se preparó la solución equivalente al estándar 0.5 de Mc Farland, con ácido sulfúrico y cloruro de bario.

Se prepararon tubos con caldo BHI, en el cual se agregó la muestra repicada en agar KF hasta obtener la turbidez equivalente a 0.5 en escala de Mc Farland (1×10^8 UFC/ml), medida en espectrofotómetro.

c.4. Obtención de biofilm

Una alícuota de 20µL de la solución ajustada a escala de Mc Farland se sembró sobre los filtros de membrana de nitrato de celulosa de 13mm de diámetro y 0.22mm de diámetro de poro, que se colocaron sobre las superficies de las placas agar KF, nueve membranas por placa, estas fueron rotuladas aleatoriamente para ser sometidas a las soluciones de irrigación.

Las placas que contenían las membranas se incubaron a continuación durante 24 horas a 37°C en una atmósfera anaerobia y 7% CO₂.

Se observó la presencia de biofilm al cabo de 24h., adherido en la superficie de los filtros de membrana.

c.5. Determinación de la disolución de biofilm

Se prepararon frascos de vidrio conteniendo 5 ml de cada una las soluciones irrigantes, las cuales fueron debidamente rotuladas con nombre y tiempo al que iban a ser sometidas los biofilms.

Los filtros de membrana se retiraron asépticamente con pinzas de la placa de agar y transferido cuidadosamente para evitar cualquier interrupción del biofilm en los frascos que contiene 5ml de agente de ensayo antimicrobiano seleccionado NaCl 0.9% (control positivo), Hipoclorito de sodio 5.25%, Clorhexidina 2%, Clorhexidina 2% + cetrimida 0.5% y se incubaron por 1, 5 y 15 minutos a temperatura ambiente.

Después de cada periodo de tiempo, los filtros de membrana se transfirieron asépticamente en tubos que contenían 5ml de caldo neutralizante durante 5 minutos para detener la acción antimicrobiana de los agentes de ensayo antimicrobiano y se sometieron a vortex durante 60 segundos.

Se sumergió cada filtro de membrana en tubos de ensayo conteniendo 5 ml de caldo BHI y se llevó a incubar por 24h.

Transcurridas 24h, se realizó la lectura de absorbancia de cada tubo en el espectrofotómetro, el cual fue comparado con caldo BHI puro.

1.2. Instrumentos

1.2.1. Instrumentos documentales

Ficha de registro laboratorial.

1.2.2. Instrumentos mecánicos

- Autoclave
- Incubadora de anaerobiosis

- Espectrofotómetro.
- vortex
- Balanza eléctrica de precisión
- Reloj cronometro con alarma
- Cámara de flujo laminar
- Refrigeradora
- Cocina eléctrica
- Cámara fotográfica

1.3. Materiales

- Tubos de ensayo estéril
- Probeta graduada
- Pipetas graduadas
- Pinzas rectas estériles
- Placas Petri estériles
- Matraz de Erlenmeyer
- Mechero
- Encendedor
- Asa de siembra
- Pala de Siembra
- Porta asa de siembra
- Gradillas
- Micropipetas graduadas
- Estándar 0.5 de Mc Farland.
- Filtros de membrana de nitrato de celulosa.
- Hipoclorito de sodio 5.25%
- Clorhexidina 2%
- Ceftriaxona 0.5%
- Infusión cerebro corazón BHI
- Agar KF
- Cloruro de sodio 0.9%

- Agua destilada
- Caldo neutralizante D/E
- Guantes
- Barbijo
- Hisopos

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1 Ubicación Espacial

La investigación se realizó en la ciudad de Arequipa, en el laboratorio de microbiología de la UCSM.

2.2 Ubicación temporal

La investigación corresponde al año 2015 así mismo una visión temporal prospectiva, explicable pues recoge información medida que van ocurriendo los hechos.

2.3 Unidades de estudio

Se optó por la alternativa de grupos, pues pertenece a una investigación cuasi experimental.

a. Identificación de grupos

Se tienen 3 grupos experimentales y uno control.

- Grupo 1 control, sometido a cloruro de sodio 0.9%.
- Grupo 2, sometido a hipoclorito de sodio 5.25%
- Grupo 3, sometido a clorhexidina 2%
- Grupo 4, sometido a clorhexidina 2% + Cetrimida 0.5%

b. Asignación de unidades de estudio

La conformación de grupos fue de manera aleatoria.

c. Tamaño de los grupos y numero de replicas

Se utilizó la siguiente fórmula para determinar el número de réplicas:

$$n = \frac{Z\alpha^2 P (1 - p)}{i^2}$$

Datos:

$Z = 1.96$; $\alpha = 0.05 = 5\%$ es decir: confiabilidad 95%

$P =$ proporción esperada para la VR. $= 0.30$

$i =$ precisión para estimar la proporción. $i = \frac{w}{2}$

$w =$ amplitud total del intervalo de confianza. $w = 0.30$ (tomado de antecedentes investigativos)

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96^2) (0.30)(1 - 0.30)}{0.15^2}$$

$$n = 36 \text{ replicas}$$

d. Formalización de los grupos:

Grupos	Nº	Total
Grupo 1	9	36 réplicas por cada tiempo.
Grupo 2	9	
Grupo 3	9	
Grupo control	9	

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización

- Autorización para uso laboratorio de microbiología de la UCSM.
- Compra de la cepa de *Enterococcus faecalis*.
- Preparación de unidades de estudio.
- Prueba piloto, se realizó en 3 muestras de cada grupo, con carácter incluyente.

3.2. Recursos

3.1.1 Recursos Humanos

Investigador : Rodrigo Coriat Gutiérrez.

Asesor : Dr. Hair Salas Beltrán.

3.1.2 Recursos Físicos

Laboratorio de microbiología de la UCSM.

3.1.3 Recursos Económicos

Propios del investigador.

3.1.4 Recursos Institucionales

Universidad Católica de Santa María.

3.3. Validación del instrumento

1.3.1. Tipo de prueba: Incluyente.

1.3.2. Prueba piloto: se realizó en 9 filtros de membrana, 3 por cada grupo de estudio experimental.

4. ESTRATEGIA DE MANEJO DE RESULTADOS

4.1 Plan de procesamiento

a. Tipo

Manual y computarizada.

b. Operaciones

b.1 Ordenamiento

Se registraron los datos obtenidos de manera manual en la ficha de observación laboratorial.

b.2 Codificación

Se codificaron los datos en una clasificación elaborada por letras.

b.3 Recuento

Se realizó de manera manual

b.4 Tabulación

Se emplearon tablas numéricas simples y de doble entrada.

b.5 Graficación

Se emplearon gráficos de dispersión y de barras teniendo en cuenta la naturaleza de la variable.

4.2 Plan de análisis

a. Tipo de análisis

Cuantitativo, tetrafactorial, univariado.

b. Tratamiento estadístico

Variable respuesta	Tipo	Escala	Estadística descriptiva	Prueba de estadística
Eliminación del biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i>	Cuantitativo	De razón	Media Desviación típica Mínimo Máximo	Tukey ANOVA





CAPÍTULO III

RESULTADOS

PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

TABLA N°. 1

**CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE CLORHEXIDINA 2%, SOBRE BIOFILM
DE *Enterococcus Faecalis* A 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS.**

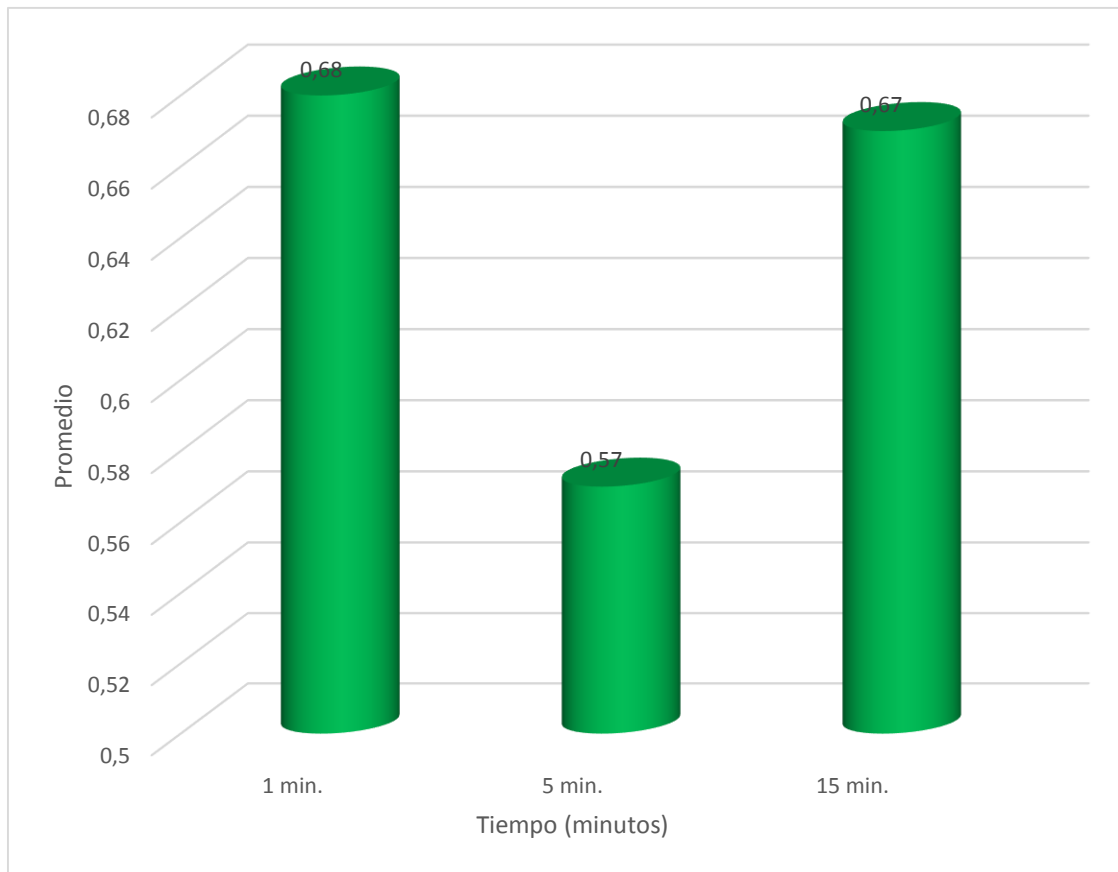
Estadísticos		Capacidad de eliminación 1 minuto	Capacidad de eliminación 5 minutos	Capacidad de eliminación 15 minutos
Media		0,68	0,57	0,67
Media porcentaje %		79.8	83.0	80.1
D.S.		0,07	0,09	0,09
Mínimo		0,56	0,41	0,53
Máximo		0,78	0,69	0,78
Tamaño		9	9	9

Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

La tabla N^a. 1, muestra que la capacidad de eliminación sobre biofilm de *Enterococcus Faecalis* cuando se utiliza clorhexidina al 2% al minuto obtuvo una absorbancia de 0,68 (79.8%), a los 5 minutos se obtuvo un valor de 0,57 (83%) y a los 15 minutos fue de 0,67 (80.1). Se puede concluir que el mejor efecto se obtuvo a los 5 minutos de exposición.

GRAFICO Nº. 1

**CAPACIDAD DE ELIMINACION DE CLORHEXIDINA 2%, SOBRE BIOFILM
DE *Enterococcus Faecalis* A 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS**



Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

TABLA N°. 2

**CAPACIDAD DE ELIMINACION DE HIPOCLORITO DE SODIO 5.25%,
SOBRE BIOFILM DE *Enterococcus Faecalis* AL 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y
15 MINUTOS.**

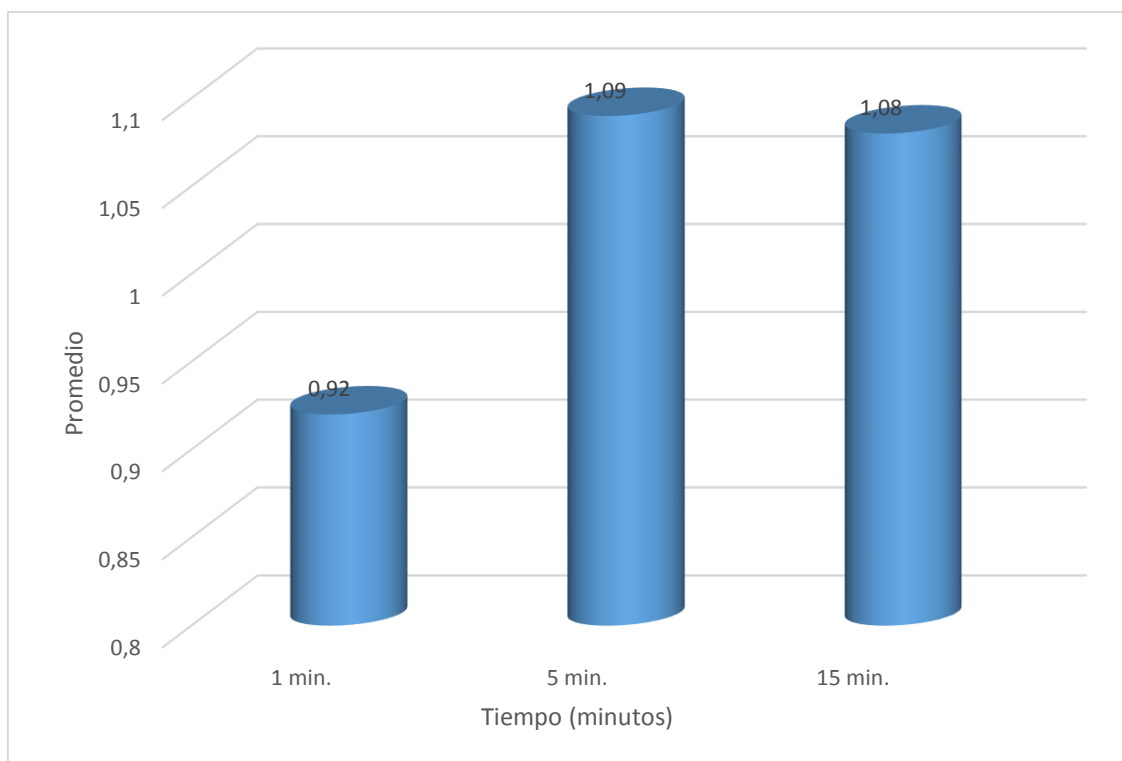
Estadísticos		Capacidad de eliminación 1 minuto	Capacidad de eliminación 5 minutos	Capacidad de eliminación 15 minutos
Media		0,92	1,09	1,08
Media porcentaje %		72.6	67.6	67.9
D.S.		0,06	0,04	0,04
Mínimo		0,83	1,04	1,03
Máximo		0,98	1,16	1,14
Tamaño		9	9	9

Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

La tabla N°. 2, muestra que la capacidad de eliminación sobre biofilm de *Enterococcus Faecalis* cuando se utiliza hipoclorito de sodio al 5.25% al minuto de exposición presenta una absorbancia de 0,92 (72.6%), a los 5 minutos se obtuvo un valor de 1,09 (67.6%) y a los 15 minutos fue de 1,08 (67.9). Se puede concluir que el mayor efecto se presentó al minuto de exposición.

GRAFICO N° 2

CAPACIDAD DE ELIMINACION DE HIPOCLORITO DE SODIO 5.25%, SOBRE BIOFILM DE *Enterococcus Faecalis* A 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS



Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

TABLA Nº. 3

**CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE LA ASOCIACION DE CETRIMIDA 0.5% +
CLORHEXIDINA 2%, SOBRE BIOFILM DE *Enterococcus Faecalis* A 1
MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS.**

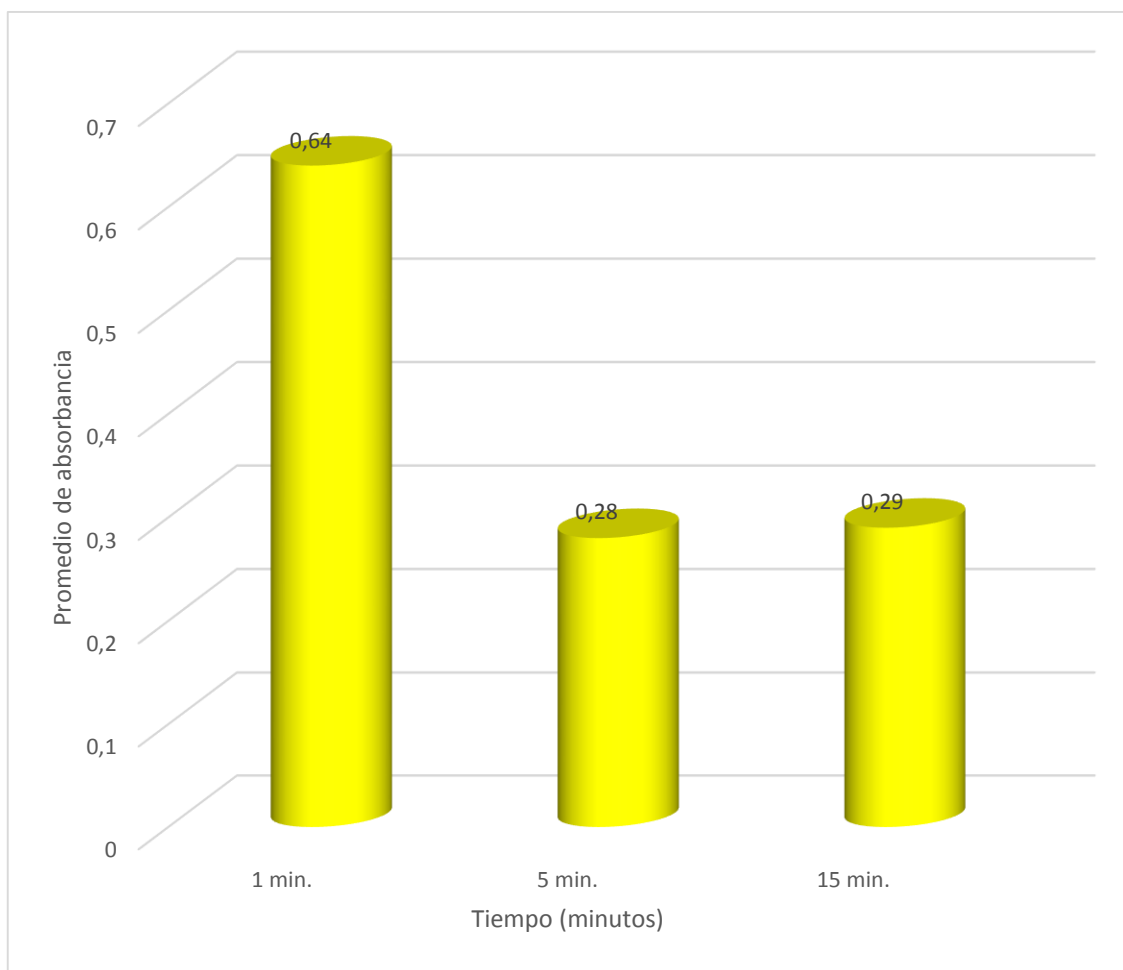
Estadísticos		Capacidad de eliminación 1 minuto	Capacidad de eliminación 5 minutos	Capacidad de eliminación 15 minutos
Media		0,64	0,28	0,29
Media porcentaje %		81	92	91.4
Desv. típ.		0,11	0,07	0,10
Mínimo		0,52	0,19	0,12
Máximo		0,78	0,39	0,42
Tamaño		9	9	9

Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

La tabla Nº. 1, muestra que la capacidad de eliminación sobre biofilm de *Enterococcus Faecalis* cuando se utiliza la asociación de cetrimida al 0.5% + clorhexidina al 2% al minuto de exposición presenta una absorbancia de 0,64 (81%), a los 5 minutos se obtuvo un valor de 0,28 (92 %) y a los 15 minutos fue de 0,29 (91.4%). Se concluye que el mejor efecto de eliminación de biofilm se obtuvo a los 5 minutos en promedio

GRAFICO N° 3

**CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE LA ASOCIACION DE CETRIMIDA 0.5% +
CLORHEXIDINA 2%, SOBRE BIOFILM DE *Enterococcus Faecalis* A 1
MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS**



Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

TABLA N°. 4

CAPACIDAD DE ELIMINACION DE CLORURO DE SODIO 0.9% (GRUPO CONTROL), SOBRE BIOFILM DE *Enterococcus Faecalis* A 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS.

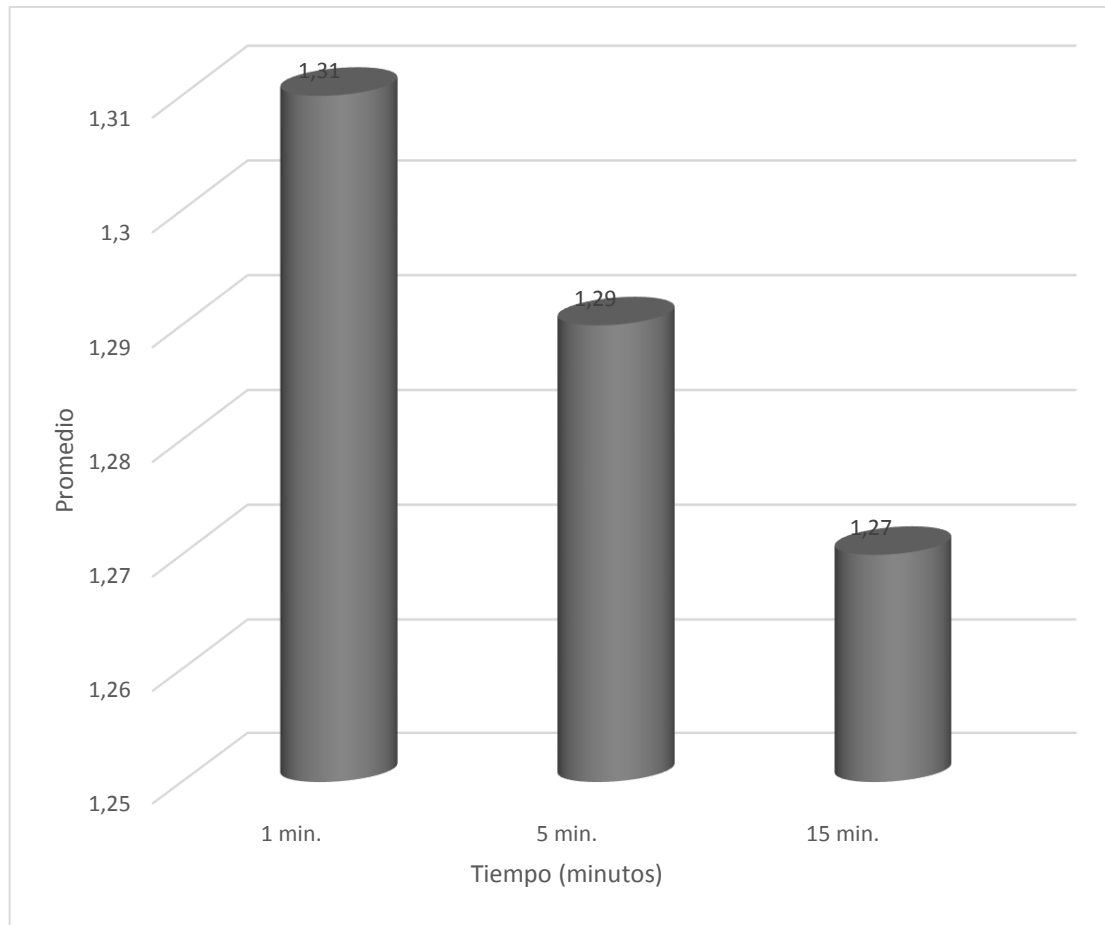
Estadísticos		Capacidad de eliminación 1 minuto	Capacidad de eliminación 5 minutos	Capacidad de eliminación 15 minutos
Media		1,31	1,29	1,27
Media Promedio %		61	61.6	62.2
Desv. típ.		0,05	0,06	0,04
Mínimo		1,24	1,21	1,21
Máximo		1,39	1,39	1,32
Tamaño		9	9	9

Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

La tabla N°. 4, muestra que la capacidad de eliminación sobre biofilm de *Enterococcus Faecalis* cuando se utiliza cloruro de sodio 0.9% (Grupo control) al minuto de exposición presento una absorbancia de 1,31, a los 5 minutos se obtuvo un valor de 1,29 y a los 15 minutos fue de 1,27.

GRAFICO N° 4

CAPACIDAD DE ELIMINACION DE CLORURO DE SODIO 0.9% (GRUPO CONTROL), SOBRE BIOFILM DE *Enterococcus Faecalis* A 1 MINUTO, 5 MINUTOS Y 15 MINUTOS



Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

TABLA Nº. 5

**COMPARACION DEL EFECTO IN VITRO DE LA ASOCIACION DE
CETRIMIDA 0.5% + CLORHEXIDINA AL 2 %, HIPOCLORITO DE SODIO AL
5.25% Y CLORHEXIDINA AL 2%, SOBRE LA ELIMINACION DE BIOFILM DE
Enterococcus Faecalis AL MINUTO DE EXPOSICION.**

Grupo	Promedio	Promedio %	Sig.
Cetrimida 0.5 + Clorhexidina 2%	0,6378	81	A
Clorhexidina 2%	0,6800	79.8	A
Hipoclorito de sodio 5.25%	0,9244	72.6	B
Cloruro de sodio 0.9%	1,3067	61	C
Fc=147,88 Ft=2,92 P<0.05			

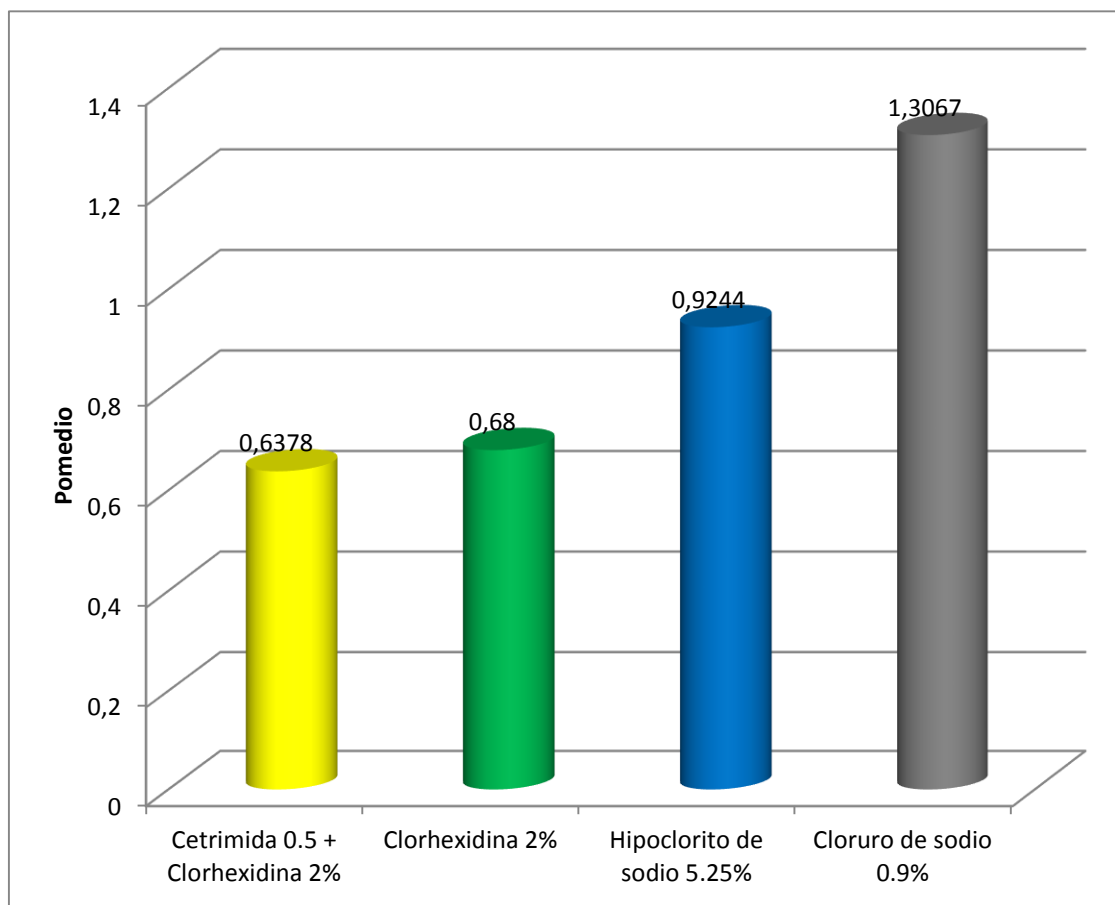
Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

La tabla Nº. 5, según el análisis de varianza de un factor de variación ($F=147.88$) se muestra que la disolución del biofilm al minuto de tratados con las soluciones presento diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$).

Según la prueba de Tukey nos muestra que el mejor promedio se obtuvo cuando se aplicó Cetrimida 0.5 + Clorhexidina 2% y este difiere de las otras soluciones aplicadas.

GRAFICO Nº. 5

COMPARACION DEL EFECTO IN VITRO DE CETRIMIDA 0.5% +
CLORHEXIDINA AL 2 %, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y
CLORHEXIDINA AL 2%, SOBRE LA ELIMINACION DE BIOFILM DE
Enterococcus Faecalis AL MINUTO DE EXPOSICION.



Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

TABLA N°. 6

**COMPARACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DE CETRIMIDA 0.5% +
CLORHEXIDINA 2%, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y
CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE LA ELIMINACION DE BIOFILM DE
Enterococcus Faecalis A LOS 5 MINUTOS DE EXPOSICION**

Grupo	Promedio	Promedio %	Sig.
Cetrimida 0.5 + Clorhexidina 2%	0,2789	92	A
Clorhexidina 2%	0,5678	83	B
Hipoclorito de sodio 5.25%	1,0856	67.6	C
Cloruro de sodio 0.9%	1,2944	61.6	D
Fc=429,18 Ft= 2,92 P<0.05			

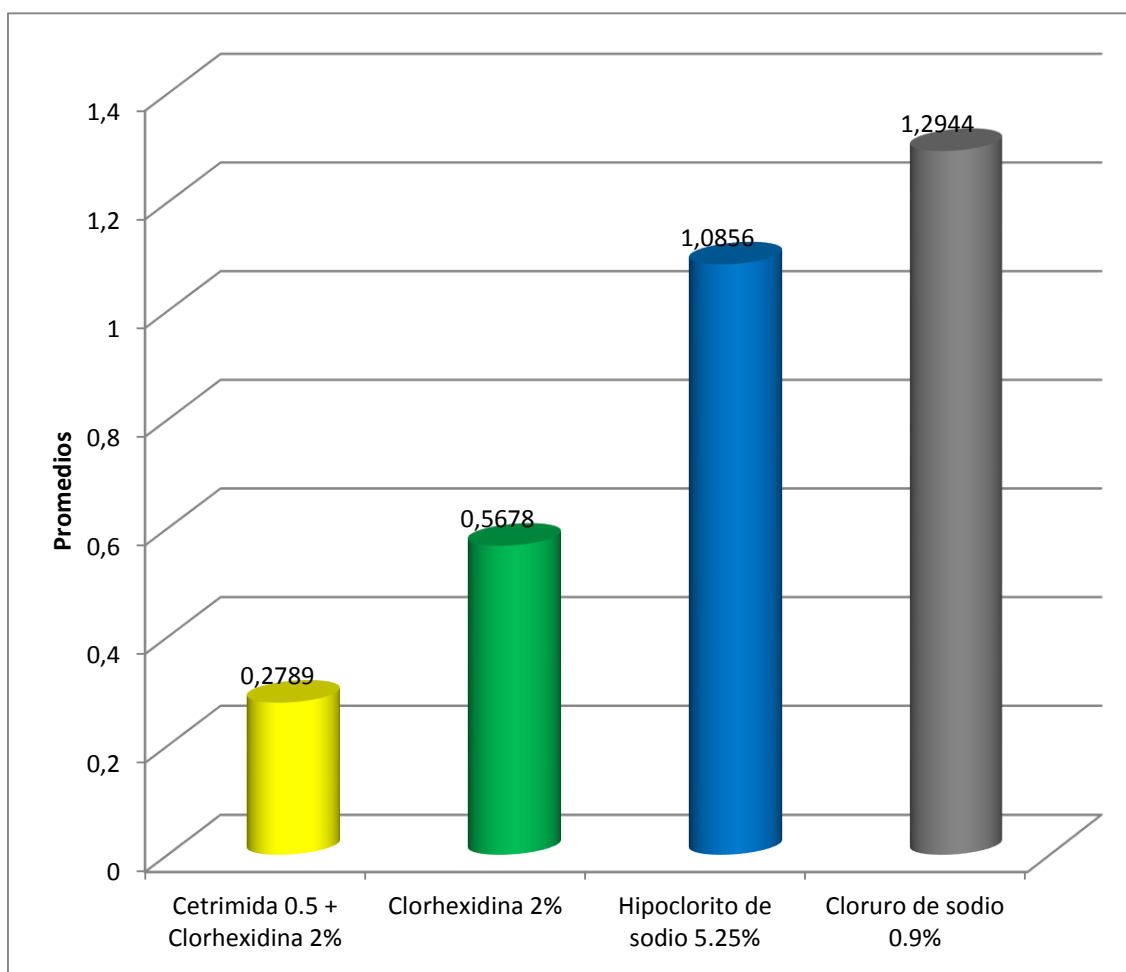
Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

La tabla N°. 6, según el análisis de varianza de un factor de variación ($F=49.18$) se muestra que la disolución del biofilm a los 5 minutos de tratados con las soluciones presento diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$).

Según la prueba de tukey nos muestra que el mejor promedio se obtuvo cuando se aplicó cetrimida 0.5% + clorhexidina 2, y este difiere de las otras soluciones aplicadas.

GRAFICO Nº. 6

COMPARACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DE CETRIMIDA 0.5% +
CLORHEXIDINA 2%, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y
CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE LA ELIMINACION DE BIOFILM DE
Enterococcus Faecalis A LOS 5 MINUTOS DE EXPOSICIÓN



Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

TABLA Nº. 7

**COMPARACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DE CETRIMIDA 0.5% +
CLORHEXIDINA 2%, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y
CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE LA ELIMINACION DE BIOFILM DE
Enterococcus Faecalis A LOS 15 MINUTOS DE EXPOSICIÓN**

Grupo	Promedio	Promedio %	Sig.
Cetrimida 0.5 + Clorhexidina 2%	0,2944	91.4	A
Clorhexidina 2%	0,6700	80.1	B
Hipoclorito de sodio 5.25%	1,0811	67.9	C
Cloruro de sodio 0.9%	1,2678	62.2	D
Fc=329,82 Ft=2,92 P<0.05			

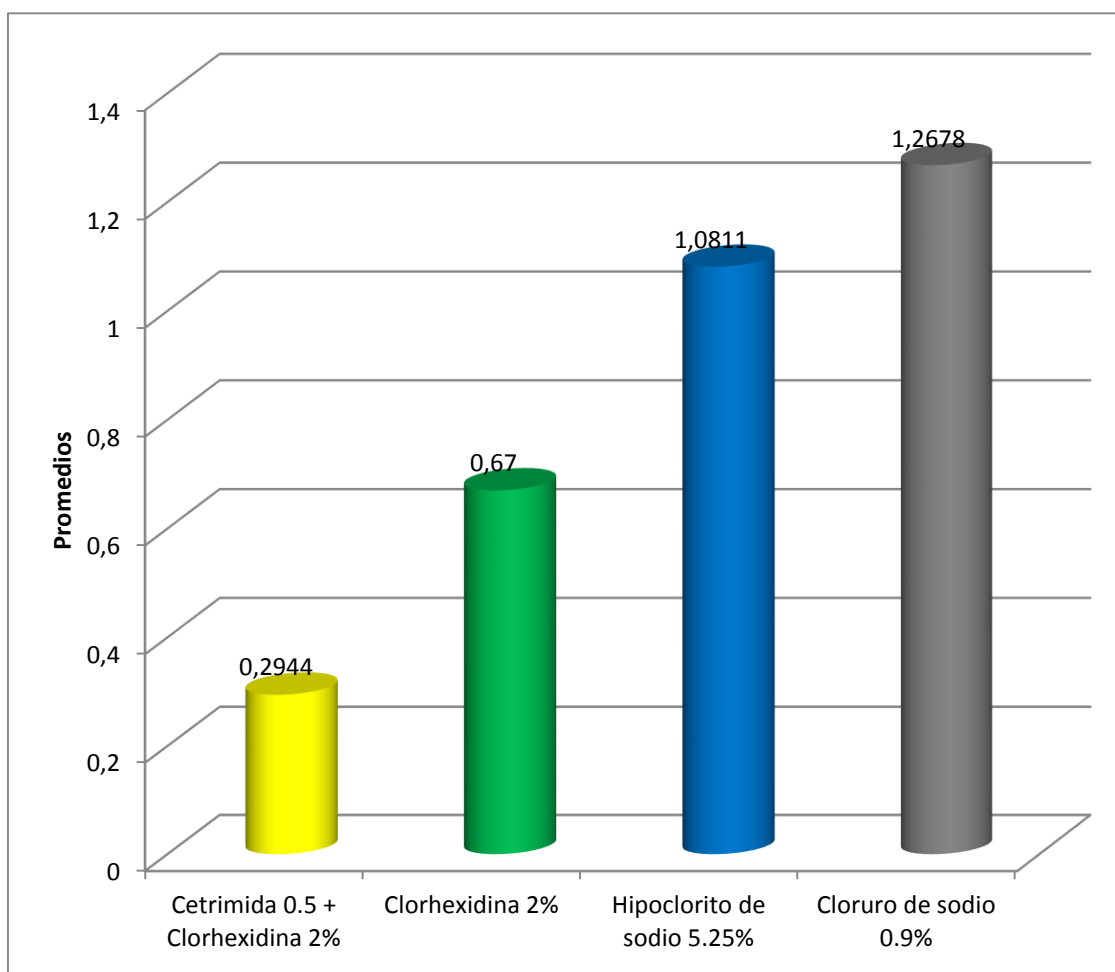
Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

La tabla Nº. 7, según el análisis de varianza de un factor de variación ($F=329.82$) se muestra que la disolución del biofilm a los 15 minutos de tratados con las soluciones presento diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$).

Según la prueba de tukey nos muestra que el mejor promedio se obtuvo cuando se aplicó el Cetrimida 0.5 + Clorhexidina 2% y este difiere de las otras soluciones aplicadas.

GRAFICO Nº. 7

COMPARACIÓN DEL EFECTO IN VITRO DE CETRIMIDA 0.5% +
CLORHEXIDINA 2%, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y
CLORHEXIDINA AL 2% SOBRE LA ELIMINACION DE BIOFILM DE
Enterococcus Faecalis A LOS 15 MINUTOS DE EXPOSICION



Fuente: Elaboración propia (matriz de datos)

DISCUSIÓN

Durante mucho tiempo se ha tratado de encontrar la solución irrigadora “ideal”, lo cual hasta el momento no se ha podido conseguir, puesto que hay opiniones divididas sobre la efectividad y biocompatibilidad de las diversas soluciones propuestas a lo largo del tiempo.

Diversos autores como Carson y Goodell en el 2005, defienden el uso de hipoclorito de sodio incluso a altas concentraciones, otros como Jiménez-Rubio, muestran que mientras más alta la concentración, su actividad antimicrobiana aumenta, proporcionalmente con tu toxicidad si alcanza los tejidos periapicales.

Oncag y colaboradores, investigaron y compararon las propiedades antibacterianas y la toxicidad entre: NaOCl 5.25%, Gluconato de Clorhexidina 2% y Cetrexidin (Clorhexidina 0.2% con Cetrimida 0.2%), concluyendo que el Cetrexidin y Clorhexidina al 2% fueron los más efectivos ya que demostraron: mayores efectos residuales, mayor actividad bactericida y menor toxicidad que la solución de NaOCl al 5.25%.

El *Enterococcus faecalis* ha sido descrita como la bacteria con mayor presencia en el caso de fracasos de tratamientos endodónticos, Chávez de Paz y colaboradores, en 2003, Lograron aislar 248 especies en 107 dientes de un total de 200 piezas dentarias con antecedente, evidencia clínica y radiográfica de periodontitis apical crónica después de realizar tratamiento endodóntico antimicrobiano; mostrando que los microorganismos más resistentes en el conducto radicular fueron: Enterococcus y Lactobacilos.

Por ello es que los esfuerzos se suman para encontrar una solución irrigadora que tenga la capacidad no solo de eliminar las bacterias, sino los biofilms formados por estas. De esta manera, se han hecho gran cantidad de investigaciones, las cuales no siempre fueron hechas con biofilms bacterianos, que es donde realmente radica el problema, sino con bacterias en suspensión, es decir en estado plactónico. Esto quiere decir que no se consigue imitar lo que ocurre dentro de los conductos radiculares, por eso la propuesta de hacer la investigación utilizando un método de generación de biofilm, como es el de

generarlo sobre filtros de membrana de nitrocelulosa que fue usado por Giardino; pudiendo conferirle está a la bacteria un soporte donde crecer, adherirse y penetrar en sus poros de 0.22 μm , semejantes a los de los tubulos dentinarios.

En el 2008 Bryce y colaboradores, sometieron biofilms de *E. faecalis* a cetrimida, siendo efectiva para eliminación y disrupción de estos. Más recientemente M. Teresa Arias Solís, mediante un estudio in vitro, en el sistema MBEC™ HTP para la formación de biofilms, determino que Cetrimida erradicó las biofilms de *E. faecalis* a partir de los 30 segundos de exposición, cuando se combinó con clorhexidina ya que se potenció su capacidad para erradicarlas, lo cual coincide con los resultados hallados en esta investigación.

En el presente estudio, se pretendió comparar el efecto in vitro sobre la eliminación de biofilm de *Enterococcus Faecalis*, del hipoclorito de sodio 5.25%, clorhexidina 2%, que son los irrigantes más comerciales y usados en nuestro medio, con la asociación de Cetrimida al 0.5% + clorhexidina 2%.

Los resultados obtenidos mostraron que la asociación de Cetrimida mas clorhexidina, obtuvo mejores resultados que las soluciones antes mencionadas, siendo el mejor efecto el que se consiguió a los 5 minutos de exposición obteniendo una absorbancia de 0.2789 (92%).

En segundo lugar quedo la acción de la clorhexidina que obtuvo una absorbancia de 0.5678 (83%) usada de manera individual, un resultado significativamente diferente ($P < 0.05$), al de la combinación con cetrimida, lo cual comprobaría nuestra hipótesis, del efecto sinérgico que se consigue de la asociación de estas dos soluciones y lo descrito por las fuentes bibliográficas consultadas.

Los resultados más bajos para eliminación de biofilm de *Enterococcus faecalis*, los obtuvo el hipoclorito de sodio 5.25%, lo cual es un dato ciertamente incongruente, ya ciertos estudios nos detallan que es la solución con mayor poder antimicrobiano usado en endodoncia. Es así que Siqueira y Cols además Baumgartner y Cuenin, encontraron que la concentración de hipoclorito de sodio no es tan importante como el cambio constante de la solución y su uso en cantidades significativas. Además se sabe que hay ciertos factores como la temperatura, almacenamiento y luz descritos por Gambarini que pueden

disminuir el efecto del hipoclorito de sodio, lo cual quizá también influyo en los resultados obtenidos por Chávez en el 2013, quien analizo entre otras el efecto del hipoclorito de sodio sobre biofilm de *Enterococcus faecalis*, obteniendo este resultados similares al obtenido en este trabajo de investigación. Por lo que se sugiere se debe tener especial cuidado con la conservación de esta solución.



CONCLUSIONES

PRIMERA:

La combinación de Cetrimida 0.5% + clorhexidina 2%, tiene efecto sobre la eliminación de biofilm de *Enterococcus Faecalis*, obteniendo un promedio de 0,2789 (92%) a los 5 minutos de exposición, según la prueba de Tukey.

SEGUNDA:

La clorhexidina 2%, tiene efecto sobre la eliminación de biofilm de *Enterococcus Faecalis*, obteniendo un promedio de 0,5678 (83%) , a los 5 minutos de exposición, según la prueba de Tukey.

TERCERA:

El hipoclorito de sodio 5.25% tiene efecto sobre la eliminación de biofilm de *Enterococcus Faecalis*, obteniendo un promedio de 0,9244 (72.6%) al minuto de exposición, según la prueba de Tukey.

CUARTA:

El mejor efecto para la eliminación de biofilm de *Enterococcus Faecalis*, lo obtuvo la asociación de Cetrimida 0.5% + clorhexidina 2%, en todos los tiempos probados, obteniendo diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

RECOMENDACIONES

PRIMERA:

Analizar la cetrimida, independientemente y en concentraciones diferentes sobre biofilm de *Enterococcus Faecalis* y otras especies bacterianas.

SEGUNDA:

Realizar investigaciones que propongan diferentes asociaciones con cetrimida.

TERCERA:

Realizar investigaciones in vivo, para descartar posibles efectos adversos.

CUARTA:

Analizar y comparar la eficacia del método de generación de biofilm empleado en este estudio y proponer otros métodos diferentes.

BIBLIOGRAFÍA

- SOARES José, GOLDBERG Fernando, Endodoncia: técnica y fundamentos, Endodoncia: técnica y fundamentos
- JAMES L. GUTMANN, Solución de problemas en endodoncia: prevención, identificación y tratamiento.
- LEONARDO Mario Roberto, Endodoncia: tratamiento de conductos radiculares – principios técnicos y biológicos.
- MARIO ROBERTO LEONARDO, RENATO DE TOLEDO LEONARDO, Endodoncia: conceptos biológicos y recursos tecnológicos.
- ESTRELA, CARLOS, 1ra edición, Editorial artes médicas, Sao Paulo, 2005.
- Ingle JI, Bakland LK. Endodoncia 1996. México. MacGraw&endash;Hill Interamericana

HEMEROGRAFIA

- Arias Moliz Teresa, Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* a soluciones irrigadoras de uso endodóntico.
- Bryce G, Ready D, Donell DO, Ng P, Pratten J, Gulabivala K. Biofilm disruption by root canal irrigants and potential irrigants. *Int. Endod J* 2008; 41:814-5.
- Carlos Padilla E., María Núñez A., Andrés Padilla G. y Olga Lobos G. Genes de virulencia y bacteriocinas en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas desde diferentes muestras clínicas en la Región del Maule, Chile
- Carson KR1, Goodell GG, McClanahan SB. Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens
- Chavez de Paz L, Dalién G, Molander A, Moller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *International Endodontic Journal* 2003;36:500-8
- Edna Jaquez Bairan, Maytté Marcano Caldera, Una Visión Actualizada del Uso del Hipoclorito de Sodio en Endodoncia. <http://www.carlosboveda.com/>
- Germán Pardi, Carolina Guilarte, Elba Inés Cardozo, Elsi Natalí Briceño, DETECCIÓN DE *Enterococcus faecalis* EN DIENTES CON FRACASO EN EL TRATAMIENTO ENDODÓNTICO
- Giardino L , Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia EA. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD and TETRACLEAN against *Enterococcus faecalis* biofilm *J Endod* 2007; 33: 852-5.
- Jason M. Duggan, DDS, and Christine M. Sedgley, PhD, Biofilm Formation of Oral and Endodontic *Enterococcus faecalis*

- Jiménez-Rubio A, Segura JJ, Llamas R, Jiménez-Planas A, Guerrero JM, Calvo JR, In vitro study of the effect of sodium hypochlorite and glutaraldehyde on substrate adherence capacity of macrophages.
- Mileydi de la C. Torres López, Marcial Díaz Álvarez, Alina Acosta Morales, La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en; la estomatología.
- Oncag, Hosgor, Hilmioglu, Zequioglu, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. International Endodontic Journal 2003;36:423-32
- Rodney M. Donlan¹, J. William Costerton, Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms.
- CHÁVEZ TICA, Deysi. Efecto bactericida in vitro de la solución del extracto estabilizado de *Carica pubescens* (papaya arequipeña) al 2%, del gluconato de clorhexidina al 2% y del hipoclorito de sodio al 5%, sobre el crecimiento del *Enterococcus faecalis* en diferentes tiempos. UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA. AREQUIPA – 2013
- Siqueira Jr JF, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical Reduction of the Bacterial Population in the Root Canal after Instrumentation and Irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25%.
- Baumgartner JC, Cueninof PR. Efficacy of several concentration of Sodium Hypochlorite for Root Canal Irrigation.
- Gambarini G et al. Chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigant. J Endodon 1998; 24: 432-4.

INFORMATOGRAFÍA

- <http://www.medigraphic.com/pdfs/odon/uo-2009/uo094d.pdf>
- <http://www.medlinedental.com/pdf-doc/ENDO/VOL283rev2.PDF>
- http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/3433/3/T_17701.pdf
- https://dspace.usc.es/bitstream/10347/6250/1/rep_304.pdf
- <http://www.scielo.br/pdf/bdj/v24n3/0103-6440-bdj-24-03-224.pdf>
- <http://eprints.uanl.mx/4104/1/1080256455.pdf>
- <http://s1.labroots.com/user/publications/detail-search/ipi/Pubmed/id/20416430/title/effect-of-ethylenediaminetetraacetic-acid-and-sodium-hypochlorite-irrigation-on-enterococcus-faecalis-biofilm-colonization-in-young-and-old-human-root-canal-dentin%3A-in-vitro-study>.
- http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0213-12852014000500004&script=sci_arttext
- <http://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/295736/>
- <http://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/295736/>
- <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1834-7819.2012.01711.x/pdf>
- <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.288.325&rep=rep1&type=pdf>
- <http://www.iztacala.unam.mx>
- www.encolombia.com/odontologia/odontonet/monografiaclorhexidina.htm

- http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2006_n1/pdf/a8.pdf
- <http://revista.colegiodentistas.org/index.php/revistaodontologica/article/viewFile/34/69>





ANEXO N° 1

MODELO DEL INSTRUMENTO



FICHA DE OBSERVACIÓN

FICHA DE OBSERVACIÓN LABORATORIAL				
Grado de turbidez según escala Mc Farland				
Tiempo de exposición: _____ Min				
Repetición	Hipoclorito de sodio 5.25%	Clorhexidina 2%	Cetrimida 0.5% + clorhexidina 2%	Cloruro de sodio 0.9%
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				



MATRIZ DE DATOS

Repetición	Hipoclorito de sodio 5.25%	Clorhexidina 2%	Cetrimida 0.5% + clorhexidina 2%	Cloruro de sodio 0.9%
tiempo: 1 minuto		LECTURA CON ESPECTROFOTOMETRO		
1	0.88	0.62	0.57	1.24
2	0.95	0.68	0.68	1.28
3	0.97	0.78	0.59	1.31
4	0.84	0.73	0.53	1.33
5	0.94	0.68	0.77	1.27
6	0.97	0.69	0.52	1.39
7	0.98	0.63	0.78	1.26
8	0.83	0.56	0.54	1.38
9	0.96	0.75	0.76	1.3
tiempo: 5 minutos		LECTURA CON ESPECTROFOTOMETRO		
1	1.1	0.53	0.21	1.31
2	1.16	0.68	0.29	1.21
3	1.09	0.6	0.19	1.23
4	1.04	0.41	0.39	1.27
5	1.07	0.61	0.29	1.35
6	1.12	0.45	0.3	1.39
7	1.08	0.69	0.25	1.34
8	1.06	0.59	0.36	1.26
9	1.05	0.55	0.23	1.29
tiempo: 15 minutos		LECTURA CON ESPECTROFOTOMETRO		
1	1.03	0.56	0.42	1.32
2	1.09	0.78	0.32	1.22
3	1.08	0.64	0.25	1.21
4	1.14	0.61	0.24	1.25
5	1.07	0.53	0.12	1.22
6	1.11	0.7	0.35	1.28
7	1.05	0.74	0.24	1.31
8	1.05	0.78	0.42	1.3
9	1.11	0.69	0.29	1.3



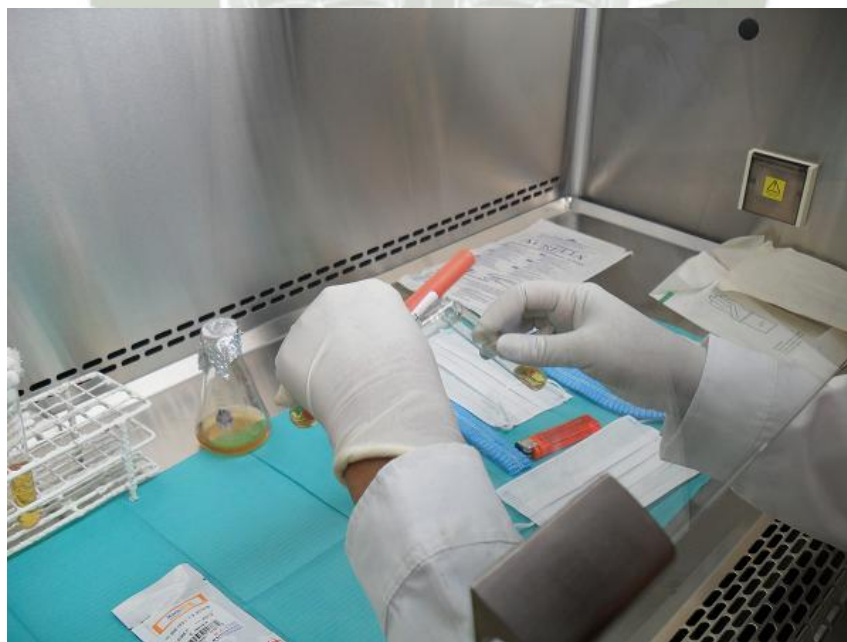
ANEXO N° 3
SECUENCIA FOTOGRÁFICA

SECUENCIA FOTOGRÁFICA

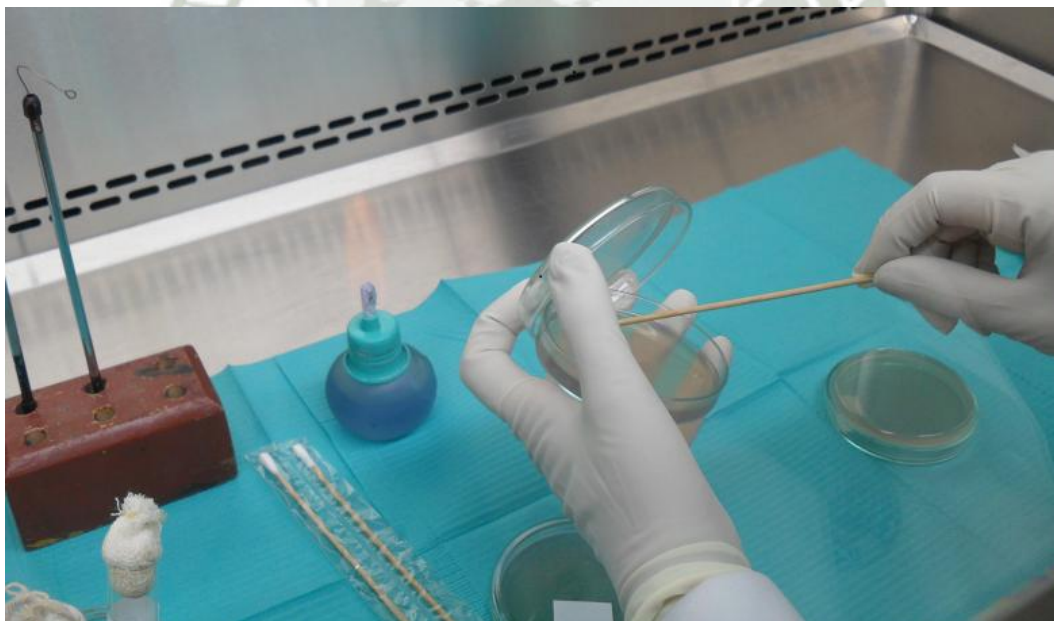
CEPA DE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212



ACTIVACIÓN DE LA CEPA DE ENTEROCOCCUS FAECALIS



PRESENCIA DE TURBIDEZ A LAS 24 H. DE INCUBACIÓN A 37 °C EN CÁMARA DE ANAEROBIOISIS

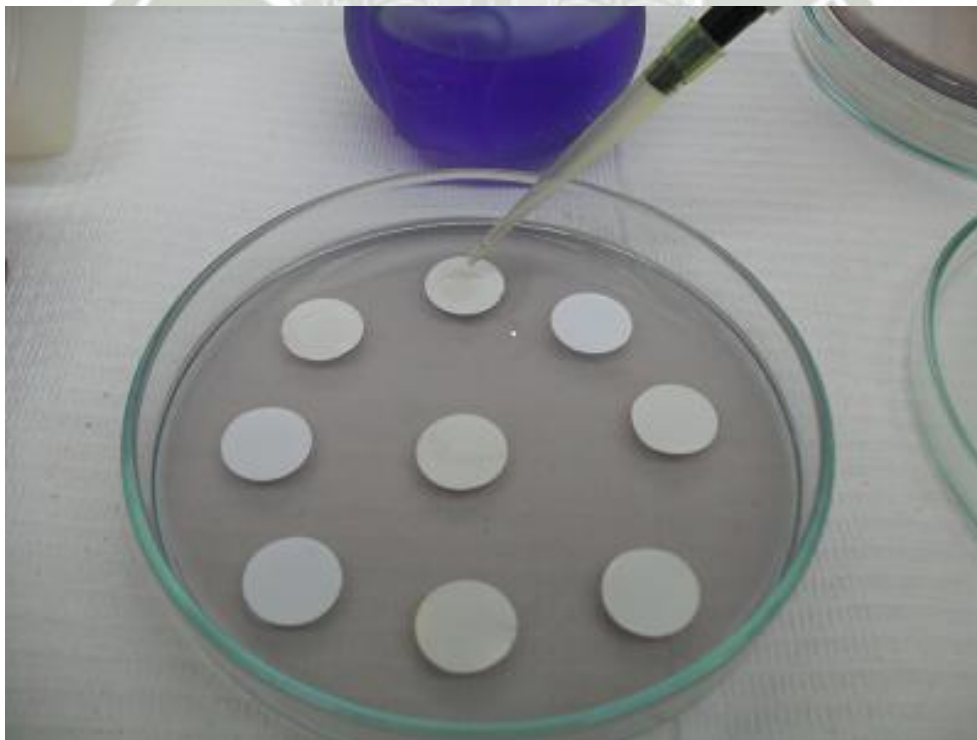
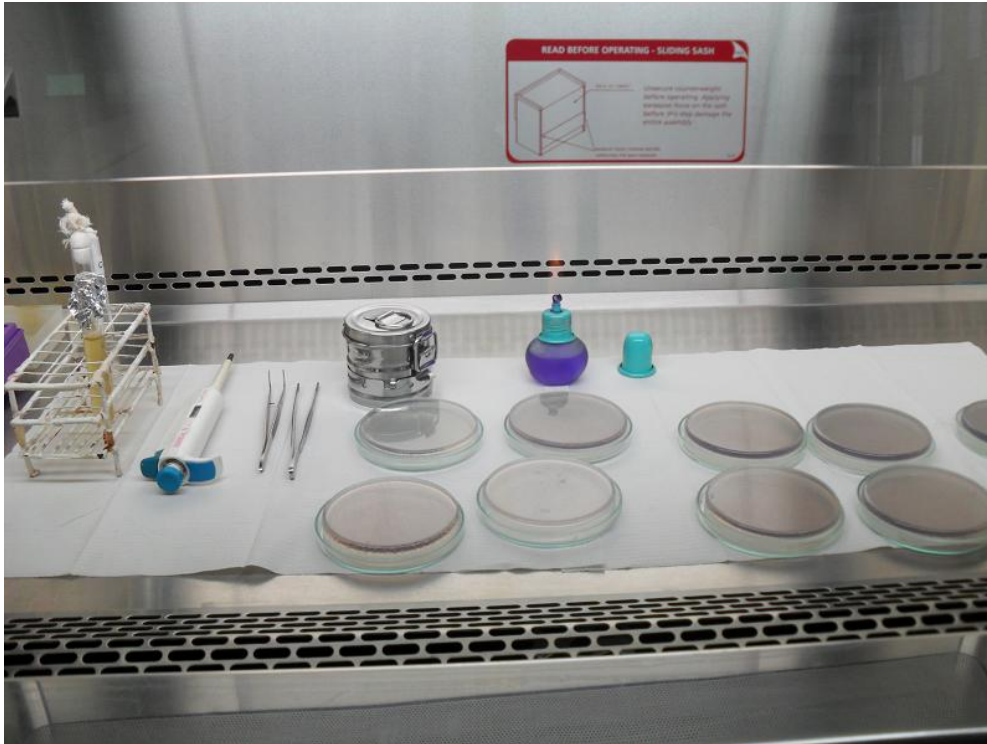


REPIQUE DE LA CEPA DE ENTEROCOCCUS FAECALIS EN AGAR SELECTIVO KF

CRECIMIENTO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS EN AGAR KF



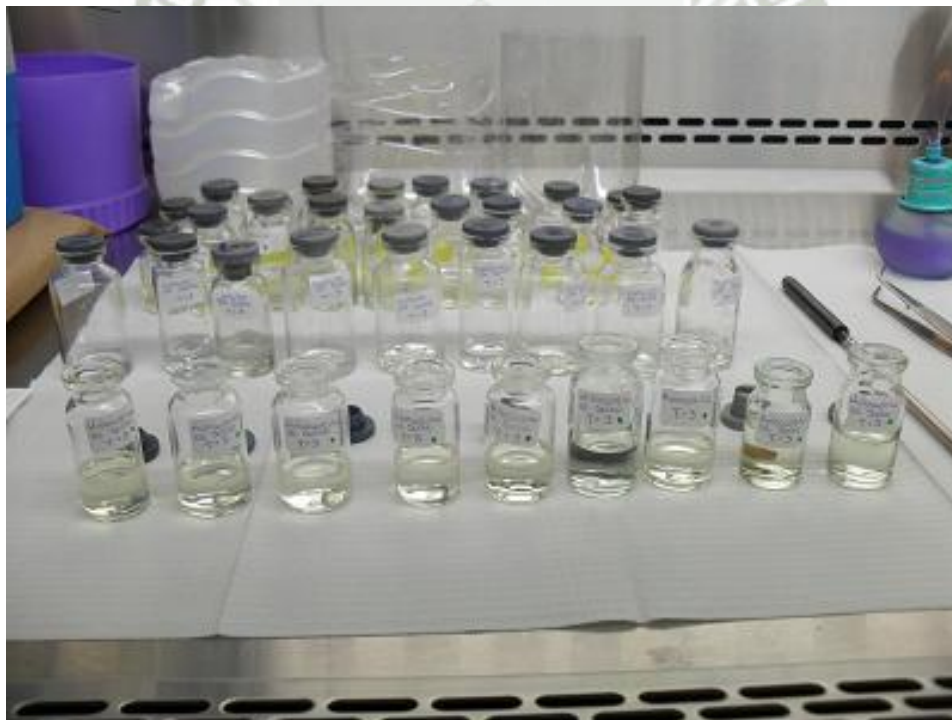
INOCULACION DE SUSPENSIÓN BACTERIANA DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, AJUSTADA A 0.5 EN ESCALA DE MC FARLAND (10^8 UFC/ ML), EN DISCOS DE FILTRO DE MEMBRANA DE NITRATO DE CELULOSA, SOBRE AGAR KF.



CRECIMIENTO DE BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS SOBRE LOS FILTROS DE MEMBRANA



PREPARACIÓN DE FRASCOS CONTENIENDO LAS SOLUCIONES DE IRRIGACIÓN



TRASLADO DE FILTROS DE MEMBRANA CON BIOFILMS A LAS SOLUCIONES DE ENSAYO.



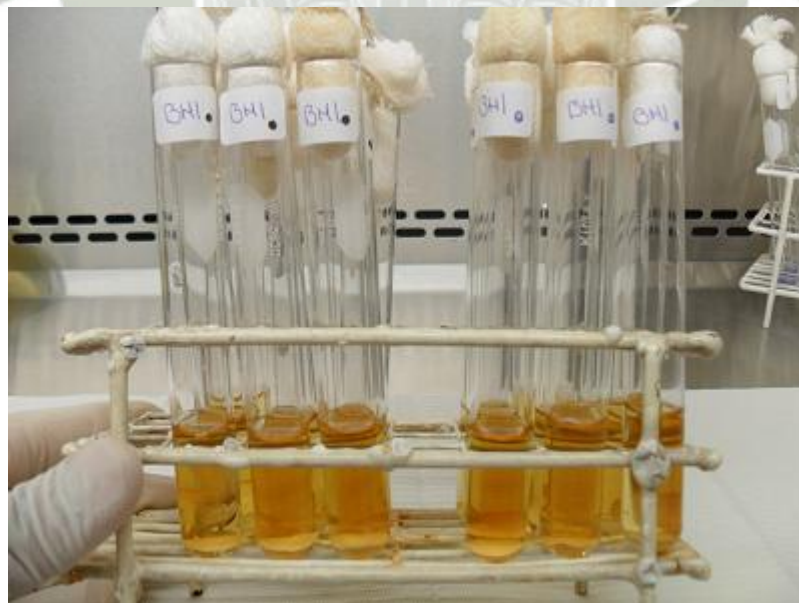
TRASLADO DEL BIOFILM DESDE LA SOLUCIÓN IRRIGANTE AL CABO DEL TIEMPO SOMETIDO,
HACIA EL CALDO NEUTRALIZANTE.



TUBO CONTENIENDO CALDO NEUTRALIZANTE SOMETIDO A VORTEX



TRASLADO DESDE CALDO NEUTRALIZANTE AL CABO DE 5 MIN. , HACIA CALDO BHI





LECTURA DE TURBIDEZ A LAS 24 H. DE INCUBACIÓN





LECTURA CON ESPECTROFOTÓMETRO

