

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL DIÓXIDO DE CLORO, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25% Y OXORAL® CONTRA BACTERIAS ANAEROBIAS

Por

AYARI DENISSE GARCÍA RANGEL

Como requisito parcial para obtener el Grado de ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Noviembre, 2021

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL DIOXIDO DE CLORO, HIPOCLORITO DE SODIO AL
5.25% Y OXORAL® CONTRA BACTERIAS ANAEROBIAS

Comité de Tesis

Dr. Jorge Jaime Flores Treviño
DIRECTOR DE TESIS

Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos
CO-DIRECTOR DE TESIS

ESPECIALIDAD DE ENDODONCIA

**EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL DIOXIDO DE CLORO, HIPOCLORITO DE
SODIO AL 5.25% Y OXORAL® CONTRA BACTERIAS ANAEROBIAS**

C.D.M.Sc. JORGE JAIME FLORES TREVIÑO
COORDINADOR DEL POSGRADO DE ENDODONCIA

C.D.M.O.A. ROSA ISELA SÁNCHEZ NÁJERA PhD
SUBDIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE ODONTOLOGÍA
DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL DIOXIDO DE CLORO, HIPOCLORITO DE SODIO AL
5.25% Y OXORAL® CONTRA BACTERIAS ANAEROBIAS

APROBACION DE LA TESIS

LOS MIEMBROS DEL JURADO ACEPTAMOS LA INVESTIGACION Y APROBAMOS EL
DOCUMENTO QUE AVALA LA MISMA; COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD DE ENDODONCIA.

HONORABLES MIEMBROS DEL JURADO

Dra. Eyra Elvyra Rangel Padilla
PRESIDENTE

Dr. Jorge Jaime Flores Treviño
SECRETARIO

Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis
VOCAL

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, Ludivina Rangel Martínez por todo tu apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida, y por impulsarme a continuar en mi desarrollo académico, profesional y personal.

A mis abuelitos, Rubén Rangel Casas y Ma. Julieta Martínez Villarreal por todo su apoyo en cada una de las etapas de mi vida y jamás dejarnos solos a mí y a mi familia, les agradezco todo lo que soy en este día.

A mis hermanos, Sofía, Julieta y Héctor por su apoyo durante toda mi especialidad y siempre animándome a seguir adelante.

Agradezco a las autoridades y personal que forma parte de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León y así mismo al Posgrado de Endodoncia de la UANL.

Mis agradecimientos a mis profesores, a mi director de tesis Dr. Jorge Jaime Flores Treviño por su apoyo en esta investigación, por darme la oportunidad, tener la confianza en mí y permitirme estudiar esta especialidad.

A la Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos por el apoyo en toda la parte de laboratorio de este estudio, por enseñarme querer aún más a la microbiología.

A mi amiga Vania Berzoza Treviño, que siempre me apoyo y me escucho a todas horas cuando más la necesitaba.

A mis compañeros de generación por compartir esta gran experiencia. Miguel, Vania, Alondra, Dariela, Karen y Alex: ¡Gracias!

Al CONACYT por el apoyo económico para la realización de mis estudios.

DEDICATORIA

La presente tesis se la dedico a Dios, por ser mi guía a lo largo de mi vida, a mi mamá, Ludy, a mis abuelitos, Rubén y Julieta que gracias a su apoyo pude concluir la especialidad.

A mis hermanos, Sofia, Julieta y Héctor, por su apoyo en todo lo necesario para cumplir con mis objetivos como persona y estudiante.

A mi prometido, Valente, por siempre motivarme.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	II
LISTADO DE TABLAS	V
LISTADO DE FIGURAS	VI
NOMENCLATURAS	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT	IX
1. INTRODUCCION.....	- 1 -
1. HIPOTESIS.....	- 3 -
2. OBJETIVOS	- 4 -
3.1 Objetivo general	- 4 -
3.2 Objetivo específico.....	- 4 -
3. ANTECEDENTES	- 5 -
4.1 Microorganismos asociados con la enfermedad endodóntica	- 6 -
4.1.1 Enterococcus Faecalis	- 7 -
4.1.2 Porphyromonas endodontalis	- 8 -
4.2 Tratamiento de endodoncia.....	- 8 -
4.3 Irrigación.....	- 10 -
4.3.1 Hipoclorito de Sodio (NaOCl).....	- 12 -
4.3.2 Ácido Etilendiaminotetracético EDTA	- 13 -
4.3.3 Clorhexidina	- 14 -
4.3.4 Soluciones electrolizadas de superoxidación	- 14 -
4.3.4.1 OxOral®	- 15 -
4.3.5 Ácido cítrico	- 16 -
4.3.6 Dióxido de Cloro (ClO ₂)	- 16 -
4.3.6.1 Método de Preparación.....	- 17 -
5 MATERIALES Y MÉTODOS	- 23 -
5.1 Criterios de selección	- 23 -

5.2	Definición de variables	- 24 -
5.3	Preparación de órganos dentarios.....	- 24 -
5.4	Esterilización de órganos dentarios	- 25 -
5.5	Activación de las cepas.....	- 26 -
5.6	Inoculación de bacterias	- 27 -
5.7	Protocolo clínico de irrigación.....	- 28 -
5.8	Toma de muestras.....	- 30 -
6	RESULTADOS.....	- 33 -
6.1	Efecto antimicrobiano de <i>E. faecalis</i> a las 24 horas y 7 días.....	- 33 -
6.2	Efecto antimicrobiano de <i>P. endodontalis</i> a las 24 horas y 7 días.....	- 34 -
6.3	Conteo bacteriano a las 24 horas en agar de tripticaseína de soya	- 34 -
7	DISCUSION	- 35 -
8	CONCLUSION	- 38 -
9	RECOMENDACIONES.....	- 39 -
10	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	- 40 -

LISTADO DE TABLAS

Grafica 1 Efecto antimicrobiano de <i>E. faecalis</i> a las 24 horas y 7 días.....	33-
Grafica 2 Efecto antimicrobiano de <i>P.endodontallis</i> a las 24 horas y 7 días.....	33-
Grafica 3 Conteo bacteriano a las 24 horas en agar de tripticaseína de soya.....	34-

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.....	- 25-
Figura 2.....	- 25-
Figura 3.....	- 26-
Figura 4.....	-27-
Figura 5.....	- 27-
Figura 6	- 28-
Figura 7.....	- 29-
Figura 8.....	- 29-
Figura 9.....	- 30-
Figura 10.....	- 30-
Figura 11.....	- 31-
Figura 12.....	- 31-

NOMENCLATURAS

NaOCl	Hipoclorito de Sodio
ClO ₂	Dióxido de Cloro
EDTA	Acido etildiaminotetraacético
CHX	Clorhexidina

Nombre: Ayari Denisse García Rangel

Fecha de graduación:

Universidad Autónoma de Nuevo León.

Facultad de Odontología.

Especialidad en Endodoncia.

Páginas:

Título de Estudio: “Efecto antimicrobiano del Dióxido de Cloro, Hipoclorito de Sodio al 5.25% y OxOral® contra bacterias anaerobias”.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Los irrigantes han sido utilizados para la desinfección de los conductos radiculares. Se emplean sustancias como el hipoclorito de sodio por su amplio espectro antimicrobiano, sin embargo, es tóxico para los tejidos perirradiculares lo cual ocasiona dolor posoperatorio, necrosis de los tejidos de soporte y edema en la zona afectada. **OBJETIVO:** Evaluar el efecto antimicrobiano del dióxido de cloro sobre *E. Faecalis* y *P. endodontalis*. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se seleccionaron 35 piezas unirradiculares, los cuales se decoronaron y se instrumentaron hasta su longitud irrigando con hipoclorito de sodio al 5.25%, después se esterilizaron. Se dividieron en 4 grupos por irrigante: suero fisiológico, hipoclorito de sodio, dióxido de cloro y OxOral®. En 2 subgrupos se dividieron por bacteria *E. faecalis* y *P. endodontalis*. Se cultivaron las bacterias y posteriormente se inocularon en las piezas por 24 horas. Se realizó en cada grupo un protocolo clínico de irrigación por 1 hora y 15 minutos, cambiando la solución cada 25 minutos. Al finalizar se tomó una muestra con punta de papel estéril de cada pieza y se colocó en tubo Eppendorf con caldo de tripticaseína de soya por 24 horas. Se tomó una muestra de los tubos Eppendorf y se colocó en la caja de 96 pozos. Y se tomó una muestra y se colocó en la caja petri en medio de cultivo de agar de tripticaseína de soya. **RESULTADOS:** En los grupos de NaOCl al 5.25% y ClO₂ al .12% no mostraron tener una diferencia significativa para reducir la cantidad de bacterias inoculadas en los órganos dentarios, mientras que el OxOral demostró tener un crecimiento bacteriano. Sin embargo, no hay diferencia estadísticamente significativa ya que en la prueba de viabilidad a las 24 horas y 72 horas es igual que en los dos tratamientos de NaOCl y ClO₂. **CONCLUSION:** El ClO₂ demostró tener un efecto antimicrobiano similar al NaOCl al 5.25% contra bacterias anaerobias por lo cual se puede considerar como un irrigante alternativo. Y el OxOral demostró tener un efecto inhibitorio por lo cual se necesita analizar su mecanismo de acción.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Irrigants have been used to disinfect root canals. Substances such as sodium hypochlorite are used for its broad antimicrobial spectrum, however, it is toxic to periradicular tissues, which causes postoperative pain, necrosis of the supporting tissues, and edema in the affected area. **OBJECTIVE:** To evaluate the antimicrobial effect of chlorine dioxide on *E. faecalis* and *P. endodontalis*. **MATERIALS AND METHODS:** 35 single-rooted pieces were selected, which were decorated and instrumented to their length, irrigating with 5.25% sodium hypochlorite, then sterilized. They were divided into 4 groups per irrigant: saline, sodium hypochlorite, chlorine dioxide and OxOral®. In 2 subgroups, *E. faecalis* and *P. endodontalis* were divided by bacteria. The bacteria were cultured and subsequently inoculated on the pieces for 24 hours. A clinical protocol was carried out in each group for 1 hour and 15 minutes, changing the solution every 25 minutes. At the end, a sample was taken with a sterile paper tip from each piece and placed in an Eppendorf tube with trypticasein soy broth for 24 hours. A sample was taken from the Eppendorf tubes and placed in the 96-well box. And a sample is taken and placed in the petri dish in trypticasein soy agar culture medium. **RESULTS:** In the 5.25% NaOCl and .12% ClO₂ groups they did not show a significant difference to reduce the amount of bacteria inoculated in the dental organs, while the OxOral showed a bacterial growth. However, there is no statistically significant difference since in the viability test at 24 hours and 72 hours it is the same as in the two NaOCl and ClO₂ treatments. **CONCLUSION:** ClO₂ was shown to have an antimicrobial effect similar to 5.25% NaOCl against anaerobic bacteria, which is why it can be considered as an alternative irrigant. And OxOral was shown to have an inhibitory effect, which is why its mechanism of action needs to be analyzed.

1. INTRODUCCION

El éxito del tratamiento endodóntico depende de la eliminación de los microorganismos del sistema de conductos radiculares y la prevención de una reinfección. Se han tomado medidas para reducir y prevenir una infección, entre las que se encuentran la instrumentación mecánica, irrigación y medicación intraconductos.

La irrigación además de contribuir con la desinfección es un auxiliar en la eliminación del debris y la disolución del material orgánico. Una solución de irrigación endodóntica ideal debe tener como propiedades principales: la actividad antimicrobiana, la solubilidad en agua, la baja toxicidad para tejidos perirradiculares y la capacidad de disolución de tejidos.

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es el irrigante número uno utilizado en la endodoncia por su amplio espectro antimicrobiano, capacidad para disolver tejidos orgánicos e inorgánicos, acción lubricante y baja tensión superficial durante el tratamiento de endodoncia.

El NaOCl a pesar de ser un gran desinfectante, se sabe que es tóxico para los tejidos perirradiculares del diente, lo cual puede ocasionar dolor posoperatorio, necrosis de los tejidos de soporte y edema en la zona afectada.

Se han realizado diversos estudios que se han enfocado en encontrar alguna solución desinfectante mejor que el hipoclorito de sodio.

El dióxido de cloro (ClO_2) puede ser una alternativa para tratamientos endodónticos como irrigante del conducto radicular, por demostrar propiedades antimicrobianas, baja toxicidad y la no producción de subproductos.

Se han realizado estudios con diferentes concentraciones de ClO_2 capaces de eliminar las bacterias en comparación con el NaOCl . Y en otras investigaciones han encontrado que el NaOCl es más eficaz que el ClO_2 .

Existen estudios que reportan que el ClO_2 al 13.8% a temperatura ambiente y un pH alcalino era más efectivo que el NaOCl para la eliminación de bacterias y para la disolución de tejido. Por ello es necesario aclarar el efecto antimicrobiano del ClO_2 .

La presente investigación se llevó a cabo con el objetivo de encontrar una solución irrigante para los conductos radiculares que pueda eliminar las bacterias anaerobias frecuentes dentro de los conductos y que a su vez no dañe los tejidos perirradiculares del diente.

1. HIPOTESIS

El dióxido de cloro tiene mayor actividad antimicrobiana que el Hipoclorito de Sodio al 5.25% y OxOral contra *E. faecalis* y *P. endodontalis* utilizándolo como agente irrigante durante el tratamiento endodóntico en las piezas unirradiculares humanas extraídas.

2. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antimicrobiano del dióxido de cloro sobre *E. faecalis* y *P. endodontalis*.

3.2 Objetivo específico

- Analizar el efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio al 5.25% sobre *E. faecalis*
- Analizar el efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio al 5.25% sobre *P. endodontalis*
- Analizar el efecto antimicrobiano del OxOral® sobre *E. faecalis*.
- Analizar el efecto antimicrobiano del OxOral® sobre *P. endodontalis*
- Comparar el efecto antimicrobiano del Dióxido de cloro con hipoclorito de sodio al 5.25% y OxOral®.

3. ANTECEDENTES

La pulpa es el órgano que provee al diente la vitalidad mediante componentes vasculares y nerviosos, manteniendo su fisiología normal. También se encarga de la dentinogénesis, proceso dinámico que ocurre tanto en etapas de maduración como ante la reacción a injurias o estímulos, ya sean traumáticos o infecciosos (Bruno *et al.*, 2010).

Este tejido que se encuentra protegido por el esmalte y dentina, puede llegar a ser afectado por procesos como una caries profunda o bien por un traumatismo, dejando las vías de acceso fácil para las bacterias, ocasionando una inflamación llamada pulpitis o bien una necrosis pulpar, esta última se caracteriza por la descomposición séptica o aseptica del tejido pulpar que cursa con la destrucción del sistema microvascular y linfático de las células y de las fibras nerviosas (López 2004).

La pulpa dental se encuentra en el sistema de conductos radiculares y consiste en el lumen del conducto principal, conductos laterales, accesorios y ramificados, deltas apicales y anastomosis, y este sistema de conductos son lo suficientemente amplios para alojar microorganismos (Abbot *et al.*, 1991). Estas ramificaciones se encuentran en el 74% de los casos en el tercio apical de la raíz, un 11% en el tercio medio y un 15% en el tercio cervical, estos son significativos ya que sirven para el pasaje de irritantes de la pulpa al periodonto y viceversa (Cohen y Hargreaves 2011).

4.1 Microorganismos asociados con la enfermedad endodóntica

Takehashi et al en 1965 demostró que las bacterias son la causa principal de la enfermedad pulpar y perirradicular (Takehashi *et al.*, 1965).

Las infecciones de los conductos radiculares son polimicrobianas, dominadas típicamente por bacterias anaerobias y el número de unidades formadoras de colonias (UFC) suele oscilar entre 10^2 y 10^8 , existe una relación positiva entre el número de bacterias en un conducto radicular infectado y el tamaño de las transparencias perirradiculares (Bystrom *et al.*, 1987; Sundgvist 1994).

Los microorganismos aislados con mayor frecuencia incluyen bacterias anaerobias. Entre los géneros bacterianos más comúnmente encontrados son *Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Dialister*, *Streptococcus*, *Treponema* y *Enterococcus* (Siqueira y Rocas, 2013).

Los microorganismos poseen numerosos factores de virulencia, entre los que se incluyen capsulas bacterianas, fimbrias, lipopolisacáridos, enzimas, vesículas extracelulares, ácidos grasos, poliamidas, amoniaco y sulfuros de hidrógeno (Odell *et al.*, 1999).

4.1.1 Enterococcus Faecalis

E. faecalis es un coco gram-positivo anaerobio facultativo de .5 a 1 μm que habita en el tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos. Como otras especies del género Enterococos, puede causar infecciones comprometidas en humanos, especialmente en ambiente hospitalario (Ryan and Ray, 2004).

Este cataboliza una variedad de fuentes de energía que incluyen carbohidratos, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina, agmatina y cetoácidos. Los Enterococos sobreviven en ambientes muy hostiles incluidos el pH alcalino extremo y concentraciones de sal. A su vez son muy resistentes a las sales biliares, los detergentes, los metales pesados, el etanol y a la desecación (Stuart *et al.*, 2006).

E. faecalis ha sido frecuentemente aislada en piezas que han recibido tratamiento endodóntico con infecciones persistentes. Se ha aislado en infecciones endodónticas con desarrollo de periodontitis apical crónica, periodontitis apical aguda y abscesos apicales agudos con un porcentaje de aparición de 30, 10 y 5% respectivamente (Siqueira y Rocas, 2011; Halkai *et al.*, 2014).

E. faecalis posee ciertos factores de virulencia incluyendo las enzimas líticas, citolisina, sustancia de agregación, feromonas y lipoteicoicos, se ha demostrado que se adhiere a células huésped, expresa proteínas que le permiten competir con otras células bacterianas y altera las respuestas del huésped (Stuart *et al.*, 2006).

Se ha reportado la resistencia de este microorganismo a diversos agentes antimicrobianos, ya que presenta el potencial de penetración en los túbulos dentinarios, capacidad de supervivencia prolongada en dientes con tratamientos endodónticos,

capacidad de adhesión a la matriz colágena presente en la dentina y respuesta inadecuada a los antimicrobianos (Kaptan *et al.*, 2014).

4.1.2 Porphyromonas endodontalis

P. endodontalis pertenece a la familia Bacteroidaceae, se caracterizan por ser bacterias con forma de bacilos anaerobios estrictos, no esporulados e inmóviles y se encuentran asociados a las infecciones endodónticas y a la necrosis pulpar (Vásquez 2018; Makino *et al.*, 2018).

El factor de virulencia primario de *P. endodontalis* son los lipopolisacáridos los cuales inducen la secreción de citocinas inflamatorias de varias células y promueven la destrucción ósea (Ma N *et al.*, 2017).

4.2 Tratamiento de endodoncia

El tratamiento de endodoncia es un procedimiento dental relativamente complejo que se lleva a cabo en un diente que presenta pulpitis irreversible o una necrosis pulpar. (Fedorowicz *et al* 2012). El objetivo fundamental consiste en la eliminación de los microorganismos presentes que ocasionan una infección en el sistema de conductos radiculares y la prevención de una reinfección sellando el espacio del conducto radicular por medio del desbridamiento mecánico como la instrumentación, irrigación química, medicamentos intraconductos como el hidróxido de calcio y por último la obturación tridimensional del espacio del conducto radicular (Sen *et al.*, 1995, Gagliani *et al.*, 2005).

La limpieza y la conformación del conducto radicular son procesos que no son independientes entre sí. La alteración mecánica de la forma del sistema de conductos

radiculares facilita la limpieza de dos formas: en primer lugar, la eliminación directa de bacterias y fuentes de nutrientes del sistema de conductos radiculares; y, en segundo lugar, permite que los agentes activos que participan en el proceso de desinfección penetren más profundamente en el sistema de conductos radiculares. (Tomson y Simon 2016).

Walton refiere que los residuos del tejido pulpar, bacterias y restos dentinarios llegan a persistir en las irregularidades de las paredes del sistema de conductos (Walton 1976).

Conformar no es solamente remover sustancias orgánicas y bacterias, sino también eliminar las irregularidades de las paredes de los conductos radiculares, estos objetivos son frecuentemente difíciles de lograr por las variaciones del conducto. (Schilder, 1974)

Schilder en 1974 propuso objetivos de diseño para dar forma al conducto de modo que se pudiera facilitar la limpieza, pero también para producir una forma que ayudara a la obturación para producir un sellado óptimo. Estos objetivos se resumen como:

- Taper: La preparación debe de producirse una forma cónica continua
- Eje del conducto: La posición del eje del conducto debe mantenerse en el centro de la raíz
- Foramen: la posición original del foramen debe mantenerse y no debe agrandarse.

(Schilder, 1974).

La preparación radicular se realiza mediante la instrumentación mecánica complementada con la irrigación. Cuando los conductos radiculares presentan curvatura apical se dificulta la instrumentación y aumenta el riesgo de producir errores operatorios. Uno de los errores más comunes que se comete durante la instrumentación es la transportación. Se denomina transportación apical al conjunto de deformaciones en la zona apical del conducto ocasionadas por una instrumentación defectuosa en la cual se pierde la anatomía original del conducto y se desplaza de su trayectoria inicial. Existen diversas técnicas y sistemas de instrumentación que tienen como propósito facilitar la conformación del conducto radicular, minimizando los errores operatorios y aumentando así, el porcentaje de éxito en el tratamiento endodóntico. (Ontiveros *et al.*, 2012).

La irrigación y aspiración son un complemento fundamental de la instrumentación, por lo tanto, debe emplearse antes, durante y después de la misma. Estas deben preceder a la localización de conductos a la determinación de la longitud de trabajo y a la instrumentación. Con el acto de la irrigación hace que fluyan por sí mismo los materiales contaminados, tejido necrótico, productos tóxicos y restos orgánicos, neutralizándolos antes de que puedan ser llevados inadvertidamente hacia el tejido periapical (Basrani y Cañete 1988, Leonardo y Leal 1994).

4.3 Irrigación

Según la Asociación Americana de Endodoncistas define la irrigación como el lavado mediante una corriente de un fluido. La irrigación intraconducto facilita la remoción física de materiales del interior de los conductos e introducción de químicos con una actividad antimicrobiana, desmineralizante, disolución del tejido, blanqueamiento, desodorización y para el control de la hemorragia. Una irrigación activa mediante el uso de la agitación mecánica o manual ayuda a mejorar el desbridamiento físico y químico del contenido del conducto; en cambio una irrigación pasiva es un lavado suave del conducto para mejorar el desbridamiento químico sin la aplicación de energía. (Glossary: American Association of Endodontics, 2016).

Del gran número de irrigantes que se utilizan durante la preparación de los conductos radiculares existen dos tendencias; la primera se orienta hacia las propiedades químicas del agente irrigantes y la segunda se basa en la acción mecánica de la solución irrigadora como un agente arrastre. (Walton 1976 y Baker *et al.*, 1975).

En el tratamiento de Endodoncia se utilizan los irrigantes para eliminar el debri suelto, lubricar las paredes del conducto, disolver material orgánico en el conducto y para actuar como antimicrobiano. Los efectos mecánicos durante la irrigación son generados por el flujo y el reflujo de la solución irrigante en el conducto radicular. Sin importar el tipo de irrigante utilizado, la población de las bacterias que se encuentran en el interior del

conducto es significativamente reducida por los efectos mecánicos de la irrigación (Siqueira *et al.*, 1999).

A lo largo de las investigaciones se describieron las propiedades ideales de los irrigantes que son:

- Bactericida, germicida y fungicida
- Efecto antimicrobiano prolongado
- Solvente de tejidos o residuos orgánicos e inorgánicos en regiones inaccesibles
- Que tenga baja tensión superficial
- No manchar la estructura dental
- Baja toxicidad
- Eliminar la capa de barrillo dentinario o conocido como “Smear Layer”,
- Ser capaz de desinfectar la dentina subyacente y los túbulos dentinarios
- Lubricante
- No tenga efectos adversos en la habilidad para el sellado de los materiales de obturación
- Fácil aplicación, de almacenar y de vida adecuado y a un precio accesible.

(Grossman 1981; Cheung y Stock 1993; Torabinejad y Walton 1997; Tay *et al.*, 2006).

Los irrigantes se clasifican en:

- Agentes químicos
 - Agentes disolventes de tejido
 - Agentes antibacteriales
 - Bactericida
 - Bacteriostático
 - Agentes Quelantes
 - pH moderado
 - pH fuerte
- Agentes naturales
 - Agentes antibacteriales

(Kandaswamy D y Venkateshbabu N. 2010)

4.3.1 Hipoclorito de Sodio (NaOCl)

El hipoclorito de potasio fue la primera solución de cloro acuosa producida químicamente y fue inventada en Francia por Claude Louis Berthollet. En el siglo XVIII esta solución fue producida industrialmente por Percy en Javel, Francia, de ahí el nombre “Eau de Javel”. Primero se utilizaron estas soluciones de hipoclorito como agentes blanqueadores, posteriormente Labarraque recomendó el hipoclorito de sodio para prevenir la fiebre puerperal y otras enfermedades infecciosas. Basándose en los estudios de laboratorio de Koch y Pasteur, el hipoclorito gana la aceptación como un desinfectante a finales del siglo XIX. En la primera guerra mundial, la solución del hipoclorito de sodio fue utilizada como irrigante para tratar las heridas infectadas, a pesar de tener un amplio espectro, las soluciones de hipoclorito son esporicidas, virucidas y han demostrado en disolver tejido vital y necrótico. (Dakin HD 1915, Mcdonell G y Russell AD 1999, Zahed M y Yazd I. 2008).

El NaOCl actúa como disolvente de ácidos grasos orgánicos, transformándolos en sales de ácidos grasos y glicerol que reducen la tensión superficial restante. Los iones hidroxilos que libera dañan las membranas lipídicas y el ADN bacteriano y su alto pH creado desnaturaliza las proteínas y deteriora las condiciones ideales de las células, mientras que los iones de cloruro rompen los enlaces peptídicos disolviendo proteínas y liberando más cloraminas que son antibacterianas. (Zahed M y Yazd I 2008, Darcey *et al.*, 2016).

El NaOCl es el irrigante que se utiliza en la endodoncia en base a su excelente potencia antimicrobiana, esta se encuentra relacionada con el tiempo de concentración y exposición. (Grünling *et al.*, 2011, Zehnder *et al.*, 2006).

Aunque se ha demostrado que la concentración del 0,5% de NaOCl no es diferente del 5% en términos de acciones bactericidas, se requiere una concentración de al menos 1% para la disolución del tejido. Cuanto menor sea la concentración, menor será el riesgo de accidente de hipoclorito (Byström y Sunvgvist 1985).

Se ha demostrado que calentar hipoclorito al 1% mejora sus propiedades. Una solución al 2,6% de NaOCl a 37 ° C es tan eficaz como al 5,2% a 22 ° C tanto para la disolución de tejidos como para la destrucción de bacterias (Cunningham y Balekjian 1980).

Pascon y colaboradores estudiaron los efectos mecánicos del hipoclorito de sodio como irrigante endodóntico sobre la dentina, elasticidad, dureza, rugosidad, resistencia a la flexión y resistencia a la compresión, y concluyeron que el hipoclorito de sodio sufre una alteración negativa en las propiedades mecánicas de la dentina (Pascon *et al.*, 2009).

Es ampliamente conocido que la inyección accidental de NaOCl más allá del foramen apical conduce a la necrosis tisular (Garcia *et al.*, 2013).

4.3.2 Ácido Etilendiaminotetracético EDTA

El ácido etilen diamino Tetracético o EDTA, es un ácido aminopolicarboxílico, este es sólido, incoloro e insoluble en agua en agua como una solución de irrigación, es un agente quelante que remueve el smear layer. Su papel destacado como agente quelante procede de su capacidad de secuestro de iones metálicos catiónicos de dos o 3 cargas positivas como Ca^{2+} y Fe^{3+} .

El EDTA fue descrito por primera vez en 1935 por Ferdinand Munz y más tarde en 1957 se introdujo a la endodoncia por Nygaard-Øtsby. El EDTA se sintetiza principalmente a partir de etilendiamina, formaldehído y cianuro de sodio.

El modo de acción del EDTA, este extrae las proteínas superficiales bacterianas al combinarse con iones metálicos de la envoltura celular, lo que lleva a la destrucción de las bacterias (Goleman *et al.*, 2018).

4.3.3 Clorhexidina

El gluconato de clorhexidina fue la primera sal que se registró en el 1954 por la Imperial Chemical Industries Co. Ltd. De Macclesfield en Reino Unido bajo el nombre Hibitane, primer antiséptico aceptado internacionalmente para la limpieza de piel, heridas y mucosas debido a su fuerte afinidad a estas áreas y con un alto nivel de actividad antimicrobiana y baja toxicidad. En 1959, comenzó a usarse para el control de placa dentobacteriana y su uso se generalizó en odontología en la década 1970. (Gomes *et al.*, 2013)

La clorhexidina es una molécula fuertemente básica con un pH comprendido entre 5.5 a 7, la sal de digluconato de clorhexidina es fácilmente soluble en agua y es muy estable. La clorhexidina puede ser absorbida fácilmente en hidroxiapatita y la estructura dentaria, esta reacción reversible de captación y liberación produce una actividad antimicrobiana sustantiva conocida como sustantividad, este efecto dependerá de la concentración de la clorhexidina. (Goleman *et al.*, 2018).

4.3.4 Soluciones electrolizadas de superoxidación

La solución de superoxidación con pH neutro puede desorganizar el biofilm y eliminar la adherencia de los microorganismos a la dentina creando una presión isotónica negativa, mantienen un pH estable entre 6.2 y 7.8 y un potencial óxido-reducción (REDOX) mayor a 1,100 mV, estas soluciones son un coadyuvante en tratamientos odontológicos como gingivitis, periodontitis, úlceras, estomatitis etc. (Tristán *et al.*, 2015).

Las soluciones electrolizadas de superoxidación tienen un efecto antiséptico, desinfectante y esterilizante. Son desarrolladas a partir de agua común y sal a la cual se induce corriente eléctrica generando diversos elementos derivados de O, H y Cl. (Rojas *et al.*, 2013).

4.3.4.1 OxOral®

Es una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro y especies activas de cloro y oxígeno al 0.004% con un amplio espectro antimicrobiano que incluye bacterias grampositivas y gramnegativas, virus y hongos eliminándolos en 30 segundos (<https://www.esteripharma.com.mx>).

Su elevado potencial oxido-reducción, aunado a las especies activas de cloro y oxígeno, producen daño oxidante a los microorganismos patógenos, depredando electrones principalmente de sus estructuras externas. Dichas estructuras pueden ser membranas, paredes, cápsides, cápsulas, cubiertas, vesículas, etc., dependiendo del tipo de patógeno, y las cuales están formadas por distintos compuestos estructurales como polisacáridos, lípidos, proteínas, lipoproteínas, entre otros. Esto induce lisis osmótica que ocasiona extravasado del contenido intracelular y desequilibrio en los procesos bióticos del microorganismo, desencadenando su muerte. Los poros formados sobre la superficie del microorganismo permiten que las especies activas de cloro y oxígeno penetren y oxiden estructuras y sustratos internos, coadyuvando su muerte. (<https://www.esteripharma.com.mx>)

4.3.5 Ácido cítrico

Es una sustancia clasificada como un quelante por su pH bajo que reacciona con iones metálicos en los cristales de hidroxiapatita para producir un quelato metálico que reacciona con las terminaciones del agente quelante al remover los iones de calcio de la dentina formando un anillo. La dentina se reblandece cambiando sus características de solubilidad y permeabilidad del tejido especialmente la dentina peritubular rica en hidroxiapatita, incrementando el diámetro de los túbulos dentinarios expuestos (Martínez García M.G 2012).

4.3.6 Dióxido de Cloro (ClO₂)

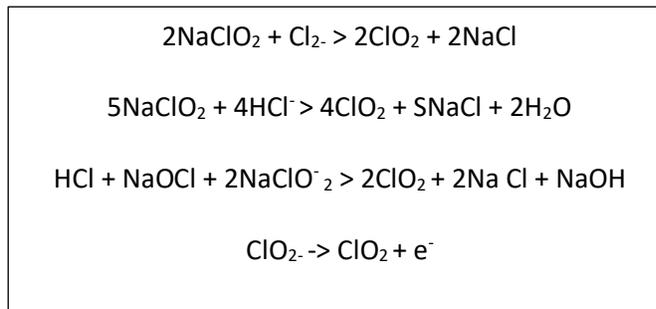
El dióxido de cloro ó ClO₂ es bien conocido y un desinfectante muy popular, sus propiedades fueron reconocidas desde los inicios de 1900 y fue registrada a EPA (Environmental Protection Agency) en forma líquida para uso como desinfectante y sanitizante en 1967. Químicamente es un radical libre estable con una estructura mesomérica. Su uso práctico incluye la desinfección de superficies, tratamiento de agua, procesado de comida, atención veterinaria y se encuentran enjuagues bucales disponibles comercialmente (Eddy *et al.*, 2005, Herczegh A *et al.*, 2013).

El ClO₂ tiene un amplio espectro de acción antimicrobiano, ya que existe como gas en el agua que penetra a través de la membrana celular bacteriana interrumpiendo el transporte de nutrientes causando la destrucción en un amplio rango de pH de 3 a 9 (Sandeep *et al.*, 2012, Cobankara *et al.*, 2010).

El ClO₂ es un desinfectante efectivo contra la reinfección de un biofilms con *E. faecalis*. El mecanismo de acción es desconocido, pero se sabe que se une a 4 aminoácidos (cisteína, metionina, tirosina y triptófano) que son esenciales para los microorganismos. Esta molécula es única porque se puede disolver en soluciones acuosas, aceite y disolventes orgánicos apolares y puede penetrar unas décimas de milímetros de

profundidad que esto nos da una propiedad muy importante en el tratamiento de biofilms (Kamalasanan *et al.*, 2017).

El dióxido de cloro (ClO₂) es preparado desde el clorito de sodio o el clorato de sodio. La oxidación electroquímica del clorito de sodio forma el dióxido de cloro, como se muestra a continuación:



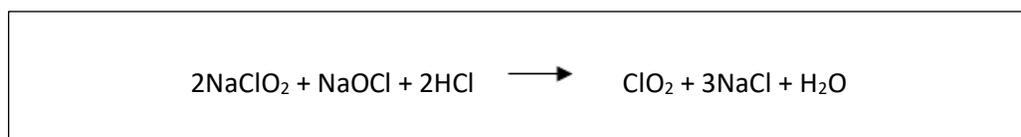
(García y Castro 2011).

Dada a la reactividad del dióxido de cloro (ClO₂), después de generado se debe almacenar en botellas ámbar con el fin de evitar la exposición a la luz solar, se deben tapar de modo que no exista volatilización y se debe mantener refrigerado.

4.3.6.1 Método de Preparación

Método 1. Solución de grado técnico de dióxido de cloro (ClO₂).

En este método, el dióxido de cloro es generado a partir de la oxidación del clorito de sodio (NaClO₂) por el ácido hipocloroso (HOCl). El ácido hipocloroso es obtenido de la mezcla de las soluciones de hipoclorito de sodio (NaOCl) y ácido clorhídrico (HCl), de acuerdo con la siguiente reacción:



Este método genera dióxido de cloro (ClO₂) a una concentración de 2000mg/l aproximadamente, y es el más apropiado en experimentos que no requieran de cloro libre.

Método 2. Solución de grado reactivo de dióxido de cloro (ClO₂)

En este método el dióxido de cloro (ClO₂) es generado por la acidificación de clorito de sodio (NaClO₂) con solución de ácido sulfúrico (H₂SO₄), como lo muestra la siguiente reacción:



Este método es empleado para normas de instrumentos de medición, o para estudios que implican la reducción de THM'S (Trihalometanos), donde la contaminación con cloro se debe evitar. (García y Castro 2011).

La colección frecuente de *E. faecalis* en conductos asociados con infecciones persistentes ha intensificado el interés por esta bacteria. *E. faecalis* se ha convertido en el microorganismo ideal para probar diferentes irrigantes, fármacos y soluciones antisépticas utilizados en endodoncia in vitro, con hallazgos que revelan su capacidad de resistencia. Este interés en *E. faecalis* se deriva de su capacidad para crecer en casi cualquier condición en el laboratorio. (Chávez, 2007).

En un estudio de Agrawal et al evaluaron la actividad antimicrobiana de hipoclorito de sodio al 5.25%, CHX al 2% y BioPure MTAD cuando se utiliza como enjuague final contra *E. faecalis*. Utilizaron 60 premolares de raíz única se inocularon con *E. faecalis* y se dividieron en varios grupos, se irrigaron con las soluciones de prueba y se analizaron microbiológicamente para determinar el crecimiento de *E. faecalis* inmediatamente después de la irrigación y a las 48 hrs. Concluyeron que el BioPure MTAD es igual de eficaz como el NaOCl al 5.25%. (Agrawal *et al.*, 2013).

Zaragoza et al compararon el efecto antimicrobiano de dos soluciones esterilizantes OxOral® Sterilizing y ACCUA Aseptic Hp® contra las bacterias más comunes en la práctica odontológica, utilizaron la técnica de difusión en agar. Prepararon cajas de petri con agar soya tripticaseina, se realizó una suspensión en solución salina estéril de las cepas *S. aureus*, *S. mutans*, *L. acidophilus*, *C. albicans*, *E. coli* y *Pseudomona sp* y se sembró con hisopo en forma masiva. Se colocaron 5 µl de solución esterilizante OxOral Sterilizing® con una micropipeta transferpette®, en discos de papel filtro estéril, colocándose en el agar previamente sembrado. Se realizo el mismo procedimiento con la solución esterilizante ACCUA Aseptic Hp®; después se incubaron a 37°C por 24 horas, el procedimiento se realizó por triplicado con cada cepa. Observaron que los halos de inhibición bacteriana con un promedio de 12mm con la solución esterilizante ACCUA Aseptic Hp®, mientras que en las bacterias con OxOral® no se observó ninguna inhibición (Zaragoza MT 2015)

Rojas et al evaluaron la capacidad antimicrobiana de una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro (OxOral® Sterilizing) comparándolo con una solución a base de peróxido de hidrógeno (Sporox II). Formaron un biofilm de *E. faecalis* en 65 raíces de órganos dentarios, cada una fue instrumentada con un juego de limas K-Flexofile y se sumergieron 12 juegos en cada solución en tiempos sugeridos por los fabricantes y conseguir esterilización; se emplearon 15 minutos para OxOral® y 6 horas para Sporox II, así como un re-uso a las 72 horas para verificar cambios en el pH y pérdida antimicrobiana. Después se incubaron las limas en medio de cultivo específico por 48 horas a 37°C, verificaron la presencia de turbidez y se determinó la escala de McFarland y se efectuaron

las diluciones correspondientes para su siembra en cajas de agar incubadas a 37°C por 48 horas, posteriormente realizaron la cuantificación de las unidades formadoras de colonias. Los resultados que obtuvieron mostraron que el OxOral® Sterilizing no mostro actividad microbica mientras que el Sporox II mostro una actividad microbica eficaz y que en ambas soluciones tuvieron un pH estable de 7 y 1 respectivamente luego de su re-uso a las 72 horas (Rojas *et al.*, 2013).

Herrera et al compararon la eficacia de eliminación de *E. faecalis* con OxOral contra el hipoclorito de sodio a los 15 y 60 segundos, utilizaron 36 cultivos de *E. faecalis* y se asignaron en 2 grupos para OxOral e hipoclorito de sodio al 5.25% y se dividieron en 15 y 60 segundos. Se les colocaron 8 mL de agua peptonada, 1 mL del irrigante y 1ML de la cepa y se dejó reposar. A cada tiempo se extrajo 1ML y se sembró en agar sangre por 24 horas. Los resultados que obtuvieron con hipoclorito de sodio a 15 segundos hubo 3 cultivos con crecimiento aceptables y a los 60segunods 4 tuvieron resultado eficaz, 3 aceptable y 1 extendido, mientras que para OxOral hubo un crecimiento extendido en los 9 cultivos, en ambos tiempo y se encontraron diferencias estadísticamente significativas a los 60 segundos y llegaron a la conclusión que el hipoclorito de sodio a los 60 segundos fue eficaz para la eliminación de *E. faecalis* (Herrera *et al.*, 2017).

Russell et al evaluaron la eficacia antibacteriana del ClO₂ para eliminar el *E. faecalis* de los túbulos dentinarios de incisivos bovinos, utilizaron irrigantes el ClO₂ al 10% (Clidox-S), ClO₂ al 13.8% (BioClenz) y NaOCl al 5.25% (Clorox), llegaron a la conclusión que tanto el ClO₂ y NaOCl son efectivos en la eliminación de *E. faecalis* dejándolos actuar por 30 minutos. (Russell *et al* 2005).

Lundstrom et al realizaron un sistema de modelo de diente bovino de triple inoculación que es un sistema de modelo robusto, consistente y reproducible para estudiar biopelículas polimicrobianas. Para determinar la eficacia bactericida se utilizaron de irrigantes el ClO₂ al .04%, NaOCl al 3%, gluconato de clorhexidina al 2% y llegaron a la conclusión que el NaOCl tuvo mayor actividad bactericida para *S. Sanguis*, *A. Viscosus* y *P. Nigrescens*.

Mientras que para *F. nucleatum* y *P. micros* no tuvieron resultados significativos. (Lundstrom *et al* 2010).

Herczegh *et al*, estudiaron la efectividad de la solución de .12% ClO_2 en comparación con NaOCl al 5.25% y clorhexidina al 2% en la eliminación del biofilm intraconducto de *E. faecalis*. Utilizaron órganos dentarios humanos que fueron inoculados con *E. faecalis*, los sistemas de conductos fueron irrigados con ClO_2 , NaOCl, CHX o solución salina para un grupo control. Se observaron las paredes de los conductos bajo microscopía electrónica de barrido. La fase gaseosa se investigó en una placa de Petri al revés y se inoculó *E. faecalis* en agar sangre. Los irrigantes se colocaron sobre papel absorbente en la cubierta. Les dio como resultado que bajo el tratamiento con ClO_2 tuvo una reinfección más baja. Y concluyeron que el ClO_2 elimina el biofilm intraconducto y mantiene el conducto casi libre de bacterias (Herczegh *et al.*, 2013).

En otro estudio de Ballal NV *et al* evaluaron el efecto del ClO_2 y otras soluciones de irrigación más comunes en la microdureza y la rugosidad de la superficie de la dentina del conducto radicular. Se utilizaron 50 órganos dentarios anterosuperiores humanos y se trataron durante 1 minuto con 5 ml de: ClO_2 a 13.8%, EDTA a 17%, ácido maleico a 7%, NaOCl a 2.5% y solución salina. Las muestras se sometieron a microdureza y a pruebas de rugosidad de la superficie. Y obtuvieron como resultados que el ClO_2 y el NaOCl reducían la microdureza más que otros agentes de prueba. (Ballal NV *et al* 2015).

Kamalasanan *et al* compararon el ClO_2 al 5% con o sin EDTA, con una combinación de NaOCl y EDTA al 3% como irrigantes endodónticos sobre la adhesión del sellador AH Plus a la dentina radicular utilizando micro-push out bond Prueba de fuerza (μPBS). Utilizaron 40 incisivos y fueron divididos en cuatro grupos que siguieron un protocolo de irrigación, el grupo 1 utilizó NaOCl 3% + EDTA 17%, en el grupo 2 utilizaron ClO_2 5% + EDTA 17%, en el grupo 3 solo utilizó el ClO_2 5% y al grupo 4 utilizaron agua salina. Los conductos fueron instrumentados con ProTaper F3, todos fueron obturados con conos de gutapercha F3 usando el sellador AH Plus, se seccionaron perpendicular a lo largo de

la raíz para obtener cortes de 1 mm de grosor de la porción media y coronal para la medición de μ PBS en una máquina de prueba universal. Los valores de la fuerza de unión estaban en el siguiente orden: Grupo I > Grupo II > Grupo III > Grupo IV y concluyeron que los valores de unión del ClO_2 eran comparables con la combinación convencional de NaOCl y EDTA y por lo tanto el ClO_2 puede considerarse como un irrigador endodóntico alternativo eficaz (Kamalasanan *et al.*, 2017).

Ozkan et al estudio la actividad antibacteriana el uso único y combinado de NaOCl, CHX, EDTA, H_2O_2 , BioPure MTAD, SmearClear y Dióxido de cloro. Utilizó órganos dentarios unirradiculares, donde se inocularon *E. faecalis* y se colocaron las soluciones irrigantes y concluyeron que el ClO_2 es químicamente similar al NaOCl, y por sus propiedades positivas se puede considerar como una alternativa a NaOCl y adecuada para uso clínico (Ozkan *et al.*, 2020).

5 MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 30 piezas unirradiculares del humano, las cuales fueron obtenidas de distintas clínicas dentales del área metropolitana de Nuevo León.

5.1 Criterios de selección

Criterios de inclusión.

- Piezas unirradiculares
- Conducto recto
- Formación completa de raíz
- Libre de fracturas
- Libre de caries en porción radicular
- Ápice cerrado

Criterios de exclusión

- Piezas con tratamiento de endodoncia previa
- Conductos calcificados

Criterios de eliminación

- Órganos dentarios contaminados
- Fractura de instrumentos
- Fractura de la pieza durante el procedimiento

5.2 Definición de variables

Independientes	Dependientes
- NaOCl al 5.25% - OxOral® - ClO ₂	- <i>E. faecalis</i> - <i>P. endodontalis</i>

5.3 Preparación de órganos dentarios

Se seleccionaron un total de 35 piezas unirradiculares humanas extraídas, a estas se les seccionó la corona en la unión amelocementaria (Fig.1 y 2) y se tomó la longitud de trabajo con una lima #15 tipo K restando un milímetro a partir de su salida al ras del foramen apical. Se instrumentaron hasta un diámetro apical 40.06 con limas vTaper2H y utilizando irrigación con Hipoclorito de Sodio al 5.25% al término del uso de cada instrumento para mantener permeable el conducto, se secaron los conductos con puntas de papel #40 Hygenic y se llenaron los mismos con EDTA al 17% por cinco minutos al cabo de los cuales se retiró el mismo mediante un lavado con hipoclorito de sodio al 5.25% y de nuevo se secaron con puntas de papel.

Se cubrió la superficie externa de las raíces con una capa de barniz transparente de uñas con el que también se selló el foramen apical para evitar contaminación externa.



Fig.1

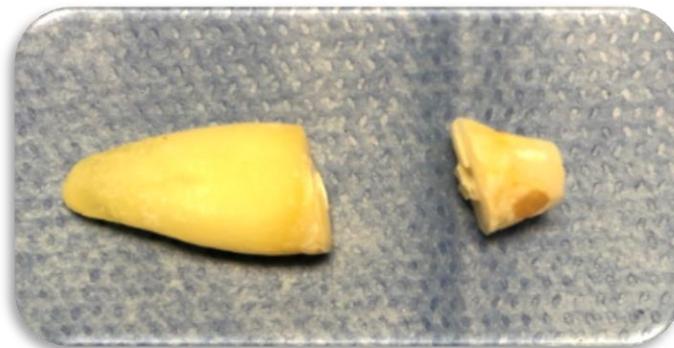


Fig.2

5.4 Esterilización de órganos dentarios

Al término de este proceso, los órganos dentarios se dividieron en 6 grupos experimentales y un grupo de control (5 piezas en cada grupo experimental y 5 piezas del grupo control) fueron colocados en una gradilla hecha a base de acrílico, se esterilizaron en autoclave durante 30 minutos a 121° y 15 libras de presión.

5.5 Activación de las cepas

Dentro de la cámara de anaerobiosis se tomaron 100 μ l de cada bacteria con una micropipeta Eppendorf y se inocularon en tubos Eppendorf con tripticaseína de soya de forma individual. Los tubos fueron colocados en la incubadora a 37°C durante 24 horas para activarlas. (Fig. 3)



Fig.3

5.6 Inoculación de bacterias

En 3 grupos experimentales se colocó las bacterias de *E. faecalis* y en los otros 3 grupos se colocó las bacterias de *P. endodontalis*. De cada uno se colocaron 10 μ l en el conducto radicular mediante el uso de la micropipeta Eppendorf retirándola lentamente, al finalizar con cada grupo se sellaron con “cleanpack” y se llevó a la incubadora a 37°C durante 24 horas. (Fig. 4 y 5)



Fig. 4



Fig.5

5.7 Protocolo clínico de irrigación

Bajo condiciones asépticas se inició el protocolo de cada uno de los grupos

Grupo 1: Bacteria *E. faecalis*/ Hipoclorito de sodio al 5.25% (n=5)

Grupo 2: Bacteria *E. faecalis*/ Dióxido de cloro al .12% (n=5)

Grupo 3: Bacteria *E. faecalis*/ OxOral® (n=5)

Grupo 4: Bacteria *P. endodontalis*/ Hipoclorito de sodio al 5.25% (n=5)

Grupo 5: Bacteria *P. endodontalis*/ Dióxido de cloro al .12% (n=5)

Grupo 6: Bacteria *P. endodontalis*/ OxOral® (n=5)

Control: Bacteria *E. faecalis* (n=3)

Control: *P. endodontalis* (n=2)

(Fig. 6).

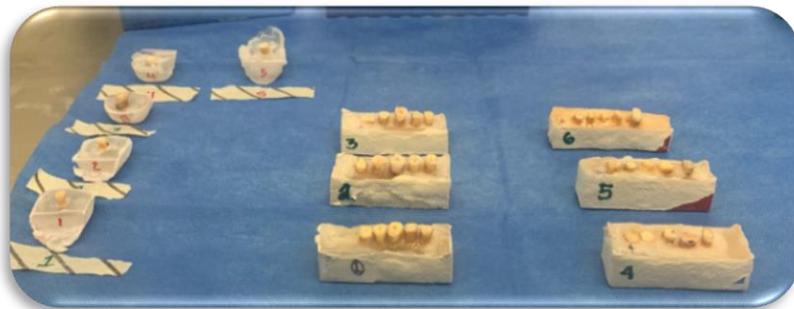


Fig. 6

Se colocó el irrigante de cada una de las soluciones y se realizó la instrumentación de cada una de las piezas, se cambiaron las soluciones cada 25 minutos hasta completar una hora y quince minutos de protocolo de instrumentación e irrigación. En la irrigación final se dejó actuar por 30 segundos solo el irrigante y se tomó una muestra con una punta de papel estéril y se coloca en tubos Eppendorf con 1000 μ l de caldo de tripticaseína de soya y todos los tubos fueron incubados a 37°C por 24 horas. (Fig. 7 y 8)



Fig. 7



Fig. 8

5.8 Toma de muestras

Se toma muestra de los tubos Eppendorf de cada grupo experimental y de control con ayuda de una micropipeta de 100 μl y se colocaron en la caja de 96 pozos. Al finalizar se toma muestra del medio de cultivo de caldo de tripticaseína de soya y muestra de bacterias *E. faecalis* y *P. endodontalis* para tener un control positivo y negativo. La caja de 96 pozos se coloca dentro del lector de placas (iMark, BIO-RAD). (Fig. 9 y 10)



Fig. 9

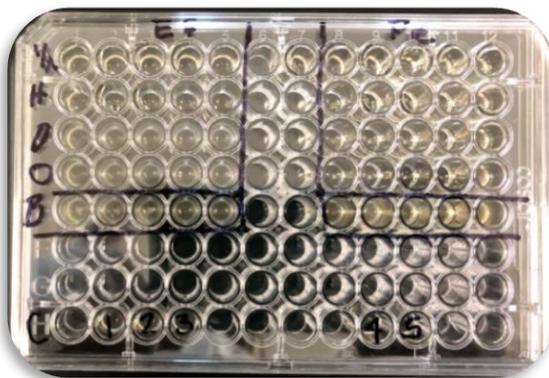


Fig. 10

Posteriormente, se tomó una muestra de los tubos Eppendorf de 1 muestra de cada grupo experimental y de control con una micropipeta de 100 μ l y se colocó en el centro de la caja petri, seguido de esto se colocó el agar de tripticaseína de soya al finalizar se cierra la caja y se movió sobre una superficie plana en forma de “8” por 10 segundos para homogenizar la mezcla, se sella la caja con cinta y se colocan dentro de una bolsa a la cual se le inyecta gas y se anuda. La bolsa con las cajas petri se incubaron a 37°C por 24 horas. (Fig. 11 y 12)

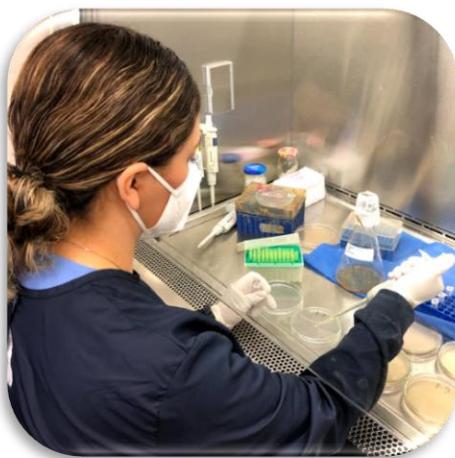


Fig. 11

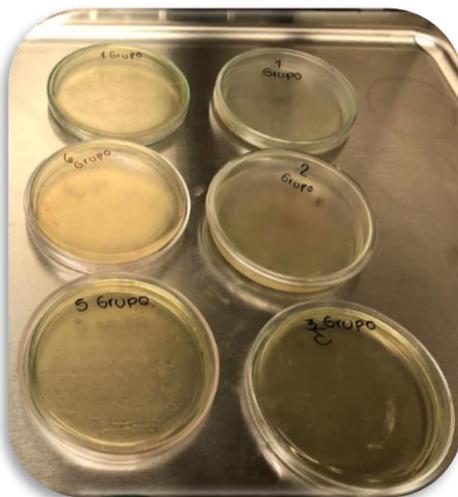


Fig. 12

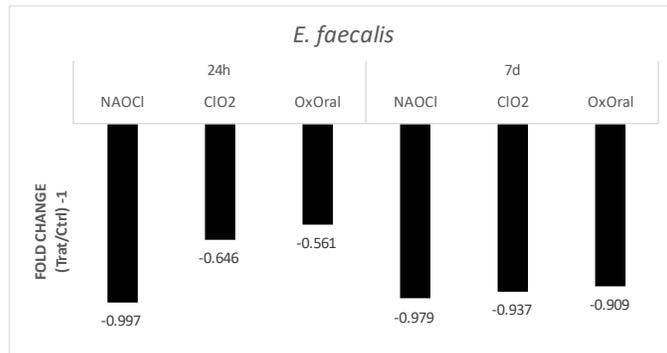
A los 7 días se vuelve a tomar muestra de los tubos Eppendorf de cada grupo experimental y de control con una micropipeta de 100 μ l y se colocaron en la caja de 96 pozos. La caja de 96 pozos se coloca dentro del lector de placas (iMark, BIO-RAD).

6 RESULTADOS

Efecto antimicrobiano del dióxido de cloro, hipoclorito de sodio al 5.25% y OxOral® contra bacterias anaerobias.

6.1 Efecto antimicrobiano de *E. faecalis* a las 24 horas y 7 días

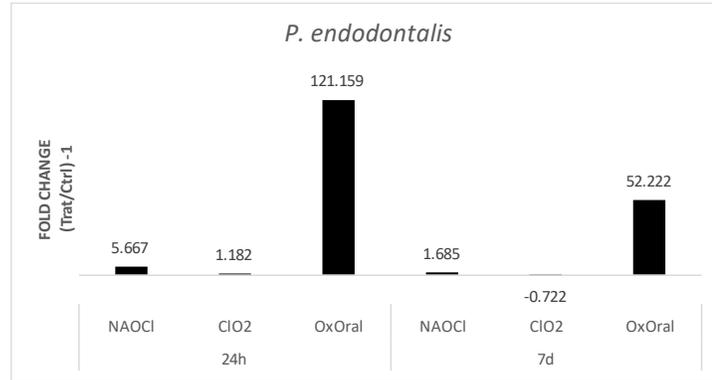
La gráfica 1 no mostró diferencia significativa entre el ClO₂ y OxOral®, mientras que a los 7 días no hay diferencia significativa de los tres irrigantes.



Gráfica 1. Porcentaje del efecto antimicrobiano después de la inoculación a las 24 horas y 7 días.

6.2 Efecto antimicrobiano de *P. endodontalis* a las 24 horas y 7 días

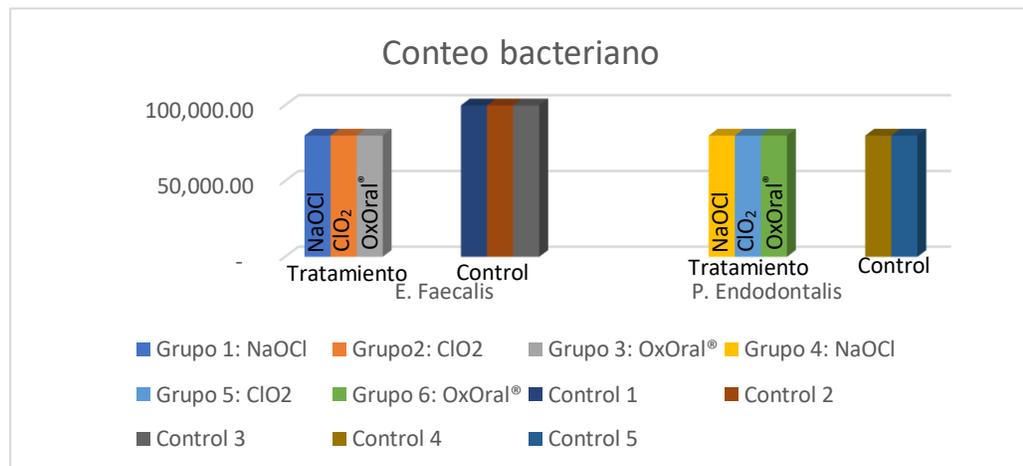
La gráfica 2 mostró que el irrigante ClO₂ tuvo mejor efecto que el NaOCl y OxOral®.



Gráfica 2. Porcentaje del efecto antimicrobiano después de la inoculación a las 24 horas y 7 días.

6.3 Conteo bacteriano a las 24 horas en agar de tripticaseina de soya

Se observa un mayor crecimiento de *E. faecalis*, el control se comparó con los irrigantes de NaOCl al 5.25%, ClO₂ al .12% y OxOral®, a diferencia de *P. endodontalis* el crecimiento fue similar en los cultivos de control y todos los irrigantes.



Gráfica 3. Conteo bacteriano en cultivo de agar de tripticaseina de soya a las 24 horas.

7 DISCUSION

Las infecciones de origen endodóntico son producidas por microorganismos que ganan acceso a la pulpa normalmente estéril y tejidos periapicales, se ha comprobado que estas infecciones son polimicrobianas, dominadas típicamente por bacterias anaeróbicas, entre los géneros bacterianos se encuentran: *Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Dialister*, *Streptococcus*, *Treponema* y *Enterococcus* (Siqueira y Rocas, 2013).

El objetivo fundamental del tratamiento endodóntico consiste en la eliminación de los microorganismos presentes que ocasionan una infección en el sistema de los conductos radiculares y la prevención de una reinfección por medio del desbridamiento mecánico como la instrumentación, irrigación química, medicamentos intraconductos como el hidróxido de calcio y sellando el espacio del conducto por medio la obturación tridimensional (Gagliani *et al.*, 2005).

La irrigación intraconducto facilita la remoción física de materiales del interior e introducción de químicos con una actividad antimicrobiana, desmineralizante, disolución del tejido, blanqueamiento, desodorización y para el control de la hemorragia (Glossary: American Association of Endodontics, 2016).

El hipoclorito se considera la solución irrigadora más utilizada en la práctica actual, por ser la que más se acerca a las condiciones ideales por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital y además de poseer un amplio efecto antibacteriano, matando rápidamente bacterias, esporas, hongos y virus. Sin embargo, resulta un agente irritante para el tejido periapical; el sabor es inaceptable por los pacientes y por sí solo no remueve la capa de desecho, ya que solo actúa sobre la materia orgánica de la pulpa y preentina. (Siqueira *et al.*, 2000; Hülsman and Hahn, 2000; Di Lenarda *et al.*, 2000;).

Con la intención de encontrar un irrigante que cumpla con las características ideales, que tenga la capacidad de disolver tejido orgánico y que a su vez no irrite los tejidos periapicales se han realizado investigaciones tratando de buscar una alternativa confiable para la irrigación del sistema de conductos radiculares. Es por ello por lo que en la presente investigación se utilizaron dióxido de cloro y OxOral® que prometen ser eficaces en la eliminación de bacterias y evitar la irritación de tejidos periapicales.

Las soluciones de superoxidación con pH neutro pueden desorganizar el biofilm y eliminar la adherencia de los microorganismos a la dentina, mantienen un pH estable entre 6.2 y 7.8, estas soluciones tienen un efecto antiséptico, desinfectante y esterilizante (Tristán *et al.*, 2015; Rojas *et al.*, 2013)

El dióxido de cloro tiene un amplio espectro de acción antimicrobiano, ya que existe como gas en el agua y puede penetrar a través de la membrana celular bacteriana interrumpiendo así el transporte de nutrientes causando la destrucción en un amplio rango de pH de 3 a 9 (Sandeep *et al.*, 2012; Cobankara *et al.*, 2010).

Bajo la metodología que se diseñó especialmente para este estudio, se obtuvo crecimiento bacteriano en todos los órganos dentarios probados. Se instrumentó e irrigó con las soluciones de NaOCl al 5.25%, ClO₂ al .12% y OxOral®. El enfoque propio de la investigación fue únicamente la disminución de la carga bacteriana, por lo tanto, se enfatiza que la eficacia de las soluciones probadas fue una comparación cuantitativa de crecimiento bacteriano post-irrigación.

Los resultados obtenidos muestran que no existe una diferencia significativa entre el NaClO al 5.25% y el ClO₂ al .12% contra el *E. faecalis*, pero se demostró que el ClO₂ es mejor contra *P. endodontalis* mientras que en los grupos del OxOral® mostró un mayor crecimiento bacteriano en ambos grupos de bacterias.

Estos resultados coinciden con el estudio de Herczegh et al donde estudiaron la efectividad de la solución de .12% ClO_2 en comparación con NaOCl al 5.25% y clorhexidina al 2% en la eliminación del biofilm intraconducto de *E. faecalis* y dándoles como resultado que bajo el tratamiento con ClO_2 tuvo una reinfección más baja y concluyeron que el ClO_2 elimina el biofilm intraconducto y mantiene el conducto casi libre de bacterias; ya que en la presente investigación se obtuvieron resultados similares, se puede decir que el ClO_2 es una alternativa contra las bacterias anaerobias.

8 CONCLUSION

De acuerdo con la metodología que se llevó a cabo en la presente investigación se demostró que en los grupos control fue evidente la presencia de las cepas bacterianas al no ser sometidas a ninguno de los irrigantes.

En los grupos de NaOCl al 5.25% y ClO₂ al .12% no mostraron tener una diferencia significativa para reducir la cantidad de bacterias inoculadas en los órganos dentarios.

En el grupo OxOral®, se demostró que seguía teniendo un crecimiento bacteriano mayor con *E. faecalis* y *P. endodontalis*. Sin embargo, no representa una diferencia estadísticamente significativa, como se aprecia en la Grafica 3, ya que en la prueba de viabilidad a las 24 y 72 Horas es igual que en los otros 2 tratamientos.

El mecanismo de acción del OxOral® deberá de ser analizado en estudios posteriores.

E. faecalis fue el microorganismo más resistente según los resultados registrados en los grupos del OxOral® mientras que en los grupos de NaOCl al 5.25% y ClO₂ al .12% en los cuales no hubo diferencia estadísticamente significativa al inhibir la presencia bacteriana.

P. endodontalis fue el microorganismo donde el ClO₂ al .12% tuvo mejor resultado al inhibir la presencia bacteriana que el NaOCl al 5.25%

9 RECOMENDACIONES

Teniendo ya una visión del comportamiento de los irrigantes investigados in vitro en este estudio, se sugiere una continuación de este trabajo probando ahora la disolución de tejido orgánico del ClO₂ al .12% y OxOral® in vitro para llegar a una conclusión de otra alternativa en los irrigantes endodónticos.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abbott PV, Heijkoop PS, Cardaci SC, Hume WR, Heithersay GS. 1991. An SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endod J*. Nov; 24 (6): 308-16
2. Agrawal V, Rama Rao MS, Dhingra K, Rajesh Gopal V, Mohapatra A, Mohapatra A. An in vitro comparison of antimicrobial efficacy of three root canal irrigants- BioPure MTAD, 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as a final rinse against *E. faecalis*. *J Contemp Dent Pract*. 2013;14(5):842–7.
3. Basrani E, Cañete M, 1988. Irrigación y aspiración. Editorial Médica Panamericana. Endodoncia Técnicas en preclínica y clínica. Buenos Aires, Argentina. pp. 128-131.
4. Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S. Scanning electro microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod* 1975 Apr; 1(4):127-135.
5. Ballal NV, Khandewal D, Karthikeyan S, Somayaji K, Foschi F. Evaluation of Chlorine Dioxide Irrigation Solution on the Microhardness and Surface Roughness of Root Canal Dentin. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 2015 Dec; 23(4):173-8.
6. Bruno KF, Silva JA, Silva TA, Batista, AC, Alencar AH, Estrela C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in human dental pulpitis. *Int. Endod. J*. 2010;43(11):1013-21
7. Byström A, Sunqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*. 1985; 18(1):35-40.
8. Cobankara FK, Ozkan HB, Terlemez A. Comparison of Organic Tissue Dissolution Capacities of Sodium Hypochlorite and Chlorine Dioxide. *J Endod*. 2010;36(2):272–4.
9. Cohen S, Hargreaves, KM. Pathways of the pulp. 10th ed. St. Louis, MO: CV Mosby Company; 2011

10. Chávez De Paz LE, Dahlén G, Molander A, Möller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J* 2003; 36:500–8.
11. Chávez de Paz Luis E. 2007. “Redefining the persistent infection in root Canals possible role of biofilm communities”. *J. Endod. Nov*; 33 (11): 1289.
12. Cheung GS, Stock CJ: In vitro cleaning ability of root canal irrigants with and without endosonics. *Int Endod J.* 1993. 26:334.
13. Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980;49(2):175-7.
14. Dakin HD. On the use of certain antiseptic substances in treatment of infected wounds. *BMJ* 1915; 2:318 –20.
15. Darcey J, Jawad S, Taylor C, Roudsari RV, Hunter M. Modern endodontic principles part 4: Irrigation. *Dent Update.* 2016;43(1):20–33.
16. Di Lenarda R, Cadenaro M, Sbaizero O. 2000. Effectiveness of 1 mol-1 citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. *Int. Endod. J.* Jan; 33(1):46-52.
17. Eddy RS, Joyce AP, Roberts S, Buxton TB. An In Vitro Evaluation of the Antibacterial Efficacy of Chlorine Dioxide on *E. faecalis* in Bovine Incisors. 2005;31(9):672–5.
18. Endodontists AA of. Glossary of Endodontic Terms 2016. *Gloss Endod Terms [Internet].* 2015; 9:43.
19. Fedorowicz Z, Nasser M, Sequeira P, et al. Irrigants for non-surgical root canal treatment in mature permanent teeth. *Cochrane Database Syst Rev* 2012:CD008948.
20. Gagliani, M. Periapical resurgery versus periapical surgery: a 5-year longitudinal comparison. *International Endodontic Journal.* 2005 (38), 320-327.
21. Garcia AJA, Kuga MC, Palma-Dibb RG, Só MVR, Matsumoto MA, Faria G, Keine KC. Effect of sodium hypochlorite under several formulations on root canal dentin microhardness. *J Investig Clin Dent.* 2013;4(4):229–32.
22. Garcia M, Castro C. Evaluación del dióxido de cloro (ClO₂) como agente oxidante para la remoción de grasas en aguas provenientes de la industria de beneficio de pollos. *J Chem Inf Model.* 2011;10–2.

23. Goleman, daniel; boyatzis, Richard; Mckee A, Perdana. COHEN Vías de la pulpa. *J Chem Inf Model*. 2018;53(9):1689–99.
24. Gomes BPFA, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J*. 2013;24(2):89–102.
25. Grossman LI: Clinical diagnostic methods. In Grossman LI, editor: *Endodontic practice*, 10th ed, Philadelphia, PA, 1981, Lea & Febiger, pp 17–22.
26. Gründling GL, Zechin JG, Jardim WM, De Oliveira SD, De Figueiredo JA. Effect of Ultrasonics on *Enterococcus faecalis* Biofilm in a Bovine Tooth Model. *J Endod* 2011. 37:1128–1133.
27. Halkai R, Hegde MN, Halkai K. Evaluation of the presence of *Enterococcus Faecalis* in root cementum: A confocal laser scanning microscope analysis. *J Conserv Dent*. 2014;17(2):119–123.
28. Herczegh A, Palcsó B, Lohinai Z, Zelkó R. PT. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2018.
29. Herczegh A, Ghidan A, Friedreich D, Gyurkovics M, Bendó Z, Lohinai Z. Effectiveness of a high purity chlorine dioxide solution in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2013;60(1):63-75.
30. Herrera Saucedo A, Corona Guerra MA, Vara Padilla FJ, Gutiérrez Valdez DH, Alavez Rebollo SL. Comparison of OxOral® and NaOCl irrigants efficiency in *Enterococcus faecalis* elimination. *Rev Odontológica Mex*. 2017;21(4):e233–6.
31. Hülsmann M, Hahn W. 2000. Complication during root canal irrigation- literature review and case reports. *Int. Endod. J*. May; 33(3):186-93.
32. Jacinto RC, Gomes BPFA, Shah HN, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Incidence and antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* isolated from mixed endodontic infections. *Int Endod J*. 2006;39(1):62–70.
33. Kamalasanan RR, Devarasanahalli S V, Aswathanarayana RM. Effect of 5 % Chlorine Dioxide Irrigant on Micro Push Out Bond Strength of Resin Sealer to Radicular Dentin: An In Vitro Study. 2017;49–53.
34. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ, The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med oral pathol*. 1965; 20:340-9.

35. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. Root canal irrigants. *J Conserv Dent*. 2010;13(4):256-264.
36. Kaptan F, Güven EP, Topcuoglu N, Yazici M, Külekçi G. In vitro assessment of the recurrent doses of topical gaseous ozone in the removal of *Enterococcus faecalis* biofilms in root Canals. *Nigerian Journal of Clinical Practice*. 2014;17(5).
37. Keenan JV, Farman AG, Fedorowicz Z, Newton JT. Antibiotic use for irreversible pulpitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005 Apr 18;(2):CD004969.
38. Leonardo M, Leal J. 1994. Endodoncia tratamiento de los conductos radiculares. Argentina, Editorial Médica Panamericana. pp. 268-75
39. López Marcos JF. Etiología, clasificación y patogenia de la patología pulpar y periapical. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004;9:52-62.
40. Lundstrom JR, Williamson AE, Villhauer AL, Dawson D V, Drake DR. Bactericidal Activity of Stabilized Chlorine Dioxide as an Endodontic Irrigant in a Polymicrobial Biofilm Tooth Model System. *J Endod*. 2010;36(11):1874–8.
41. Ma N, Yang D, Okamura H, Teramachi J, Hasegawa T, Qiu L, Haneji T. Involment of interleukin-23 induced by *Porphyromonas endodontalis* lipopolysaccharide in osteoclastogenesis. *Mol Med Rep*.2017;15(2):559-566.
42. Makino K, Takeichi O, Imai K, Inoue H, Hatori K, Himi K, Saito I, Ochai K, Ogiso B. *Porphyromonas endodontalis* reactivates latent Epstein-Barr virus. *Int Endod J*.2018;51(12):1410-9
43. Martínez García M.G. Efecto quelante del EDTA al 17%,18% y ácido cítrico al 10% para la penetración de hipoclorito de sodio en conductos laterales diseñados. Julio 2012.
44. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12:147–79.
45. Odell LJ, Baumgartner JC, Xia T, David LL. 1999. Survey for collagenase gene prtC in *Porphyromonas gingivalis* and *Porphyromonas endodontalis* isolated from endodontic infections *J. Endod* Aug; 25(8):555-8.
46. Ontiveros Gutierrez A, Cobos Hernández E, Espinosa Torres N ETA. An analysis of transportation in the apical third using the balanced-force transportation technique

as compared to the MTWO rotary instrumentation system. *Rev ADM*. 2012; LXIX No. 5(5):226-32

47. Ozkan HB, Cobankara FK, Sayin Z, Ozer F. Evaluation of the antibacterial effects of single and combined use of different irrigation solutions against intracanal *Enterococcus Faecalis*. *Acta Stomatol Croat*. 2020;54(3):250-62.

48. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppin-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. *J Dent*. 2009;37(12):903–8.

49. Rojas Briones ME, Silva-Herzog Flores D, González Amaro AM, Oliva Rodríguez R. Evaluación comparativa de la capacidad antimicrobiana de una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro y una solución a base de peróxido de hidrógeno. *Rev ADM [Internet]*. 2013;70(4):183–9.

50. Ryan KJ; Ray CG. *Sherris Medical Microbiology* (4th ed. edición). McGraw Hill. 2004.

51. Sandeep C, Ramen B, Retd S, Kar CSK, Ather A, Limaye SN. Original article Effect of chlorine dioxide and sodium hypochlorite on the dissolution of human pulp tissue e An in vitro study. 2012; 8:10–3.

52. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dental Clinics of North America*. 1974;18(2):269-96.

53. Sen BH, Wesselink PR, Turkun M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J*. 1995, 28(3):141-8

54. Shah HN, Collins MD. Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. *Int J Syst Bacteriol*. 1988;38(1):128–31.

55. Siqueira JF Jr, Lima KC, Magalhães FAC, Lopes HP, Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial cell number inside the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod* 1999; 25:332-5.

56. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Lima KC. 2000. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5% and 5,25% sodium hypochlorite. *J. Endod*. 26(6):331-4.

57. Siqueira JF, Rôças IN. Microbiología y tratamiento de las infecciones endodónticas. Las vías de la pulpa. 2011. Cap 15. Décima Edición Ed.Elsevier. PP559-601
58. Siqueira, Jr. JF, N. Rôças I. Microbiology and Treatment of Acute Apical Abscesses. Clin Microbiol Rev. 2013; 26(2):255–273.
59. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. Enterococcus faecalis : Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. 2006;32(2):93–8.
60. Sundqvist G, Johansson E, Sjögren U. Prevalence of black-pigmented bacteroides species in root canal infections. J Endod. 1989;15(1):13–9.
61. Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994; 78:522–30.
62. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ. Ultrastructure of smear layer-covered intraradicular dentin after irrigation with biopure MTAD. J Endod. 2006. 32:218
63. Tomson PL, Simon SR. 7 Contemporary cleaning and shaping. 2016;5(2):46-53.
64. Torabinejad M, Handysides R, Ali Khademi A, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002; 94:658–66.
65. Tristán López JD, Goldaracena Azuara M del P, Ramírez Muñoz CA, González Amaro AM, Ramírez García J. Efecto antimicrobiano de una solución de superoxidación con pH neutro para desinfección de cavidades clase I. Effectiveness of a neutral pH super-oxidized solution for antimicrobial disinfection of class I cavities. Rev ADM. 2015;72(4):189–97.
66. van Winkelhoff AJ, van Steenberghe TJM, de Graaff J. The role of black-pigmented Bacteroides in human oral infections. J Clin Periodontol. 1988;15(3):145–55
67. Vásquez MF. Comparación del efecto antimicrobiano in vitro de tres cementos selladores endodónticos frente a la Porphyromonas endodontalis. 2018; 1-40.
68. Walton RE. 1976. Histology evaluation of different methods of enlarging the pulp canal space. J Endod Oct; 2(10): 304-11.

69. Walton R, Torabinejad M. Endodoncia. Principios y práctica clínica. Edit. Interamericana. 1997.
70. Yu D., Schilder H. (2001). Cleaning and shaping the apical third of root canal system. General Dentistry, (), 266-271.
71. Zahed M., Yazd Ira. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. International Dental Journal 2008;58,329-341.
72. Zaragoza MT. Comparación del efecto antimicrobiano de dos soluciones esterilizantes de Super Oxidación con pH neutro. 2015;(JUNE 2012).
73. Zehnder M. Root Canal Irrigants. J Endod. 2006;32(5):389–98.