



UNAM

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**ESPECIALIZACIÓN EN  
ENDOPERIODONTOLOGÍA**

**“COMPARACIÓN DE LA ACCIÓN BACTERICIDA DE  
HIPOCLORITO DE SODIO Y MICROCYN 60”**

**T E S I S**

**ESPECIALIZACIÓN EN  
ENDOPERIODONTOLOGÍA  
PRESENTA:**

**Fabiola Haidee Sánchez Ruiz**

**Director Tesis:  
M en O. Alberto T. Furuya Meguro**

**Asesores Tesis:  
Biol. Luciano Hernández  
Esp. Abel Gómez Moreno**



IZTACALA

**Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Edo. Mex., 2006.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

Agradezco...

Al Mtro. Alberto. T Furuya su dedicación, su guía y apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

Al Biol. Luciano Hernández por su apoyo y por dedicar su tiempo a enseñarme los métodos de laboratorio y facilitarme los medios para realizar la investigación.

A mis padres por su amor, impulso y apoyo incondicional en todos los sentidos para que lograra llegar a esta meta.

A mi esposo por su amor, comprensión y apoyo.

## INDICE

	<b>Página</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>3</b>
<b>Marco teórico.....</b>	<b>4</b>
<b>Planteamiento del problema.....</b>	<b>15</b>
<b>Preguntas de Investigación.....</b>	<b>16</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>17</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>18</b>
<b>Definición de variables y escala de medición.....</b>	<b>19</b>
<b>Material y Método.....</b>	<b>20</b>
<b>Fase I Experimental.....</b>	<b>21</b>
<b>Fase II Experimental.....</b>	<b>27</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>28</b>
<b>Análisis de Resultados.....</b>	<b>34</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>35</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>36</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>37</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>39</b>

## **INTRODUCCIÓN:**

Uno de los principales factores de fracaso en los tratamientos de conductos endodónticos son debidos a las infecciones bacterianas, aunque la instrumentación de los conductos puede eliminar una gran cantidad de microorganismos, se requiere para su completa eliminación el uso de los irrigantes, y los medicamentos intraconductos.

Los irrigantes endodónticos ayudan en el tratamiento endodóntico de diversas formas principalmente el arrastre de detritus dentinario y bacterias, actualmente existen un sin número de sustancias irrigadoras desde el hipoclorito de sodio, hidróxido de calcio, clorhexidina, agua bidestilada etc.

El hipoclorito de sodio es el irrigante que ha demostrado a través de los años y de diferentes estudios científicos ser el más efectivo de todas las sustancias irrigadoras, posee un amplio poder bactericida, y además de esto tiene la capacidad de disolver el tejido tanto pulpar vivo como necrótico esta propiedad para la mayoría de tratamientos endodónticos representa una gran ventaja, pero en los casos en los cuales hay ápices abiertos ò fracturas es una desventaja ya que su utilización puede producir dolor, enfisema, muerte celular etc. Para estos casos se ha visto la necesidad del uso de otros irrigantes que tengan la misma acción bactericida pero que no causen daños al periapice.

Actualmente se ha propuesto el uso de la clorhexidina para el tratamiento de los conductos antes mencionados con ápices abiertos, fracturas etc., que es una solución usada como agente antiplaca y que se ha demostrado que posee una capacidad bactericida amplia y que no daña los tejidos periapicales, pero desafortunadamente tiene un costo muy elevado, otra alternativa que considero viable sería el uso del Microcyn 60, este medicamento actualmente está siendo utilizado en oftalmología, por su gran capacidad de destruir gérmenes se usa como preoperatorio en cirugías y es una agua superoxigenada, en endodoncia se ha utilizado desde 1941 por Grossman el oxígeno naciente pero su desventaja es que esta solución causa efervescencia lo cual podía permitir el paso de sustancias por el ápice causando enfisema motivo por el cual se quedo en desuso, y esta desventaja no la presenta el Microcyn 60.



## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

El debridamiento de los conductos radiculares es esencial para el éxito del tratamiento endodóntico. Sin embargo, las técnicas actualmente usadas como son los sistemas rotatorios obtienen una rápida preparación mecánica, pero que no logra un ensanchado capaz de eliminar a todo el tejido infectado de los conductos, aunado a una menor irrigación durante la preparación biomecánica puede dejar tejido pulpar residual, detritos dentinales y bacterias que pueden persistir en las irregularidades de las paredes del conducto esta es la razón por la cual se requiere de un irrigante con propiedades bactericidas certeras y que sea menos agresivo a tejidos blandos, el hipoclorito de sodio es actualmente el irrigante, que ha demostrado a través de estudios científicos y prácticos ser el más efectivo hasta la fecha.

Desafortunadamente es un material muy irritante para los tejidos periapicales, por lo que no se puede usar en dientes que todavía no han completado la apicoformación, (ápices abiertos), también su uso está contraindicado en perforaciones y fracturas apicales, es por esta razón que se propone el uso del Microcyn 60 que aunque contiene cloro es menos irritante a los tejidos, ya que su principal uso es en Oftalmología, como desinfectante preoperatorio, de lentes de contacto y ha demostrado tener nulos efectos sobre los tejidos blandos.





## MARCO TEORICO

El principal factor etiológico en la enfermedad endodóntica es de origen bacteriano, y fundamentalmente empieza por la caries dental que es una enfermedad microbiana de los tejidos calcificados del diente, se caracteriza por la desmineralización de la porción inorgánica y la destrucción de la porción orgánica del diente<sup>1</sup>.

Si el proceso carioso no es detenido a tiempo, va avanzando dañando el paquete vasculonervioso en sus diferentes fases, que va desde una pulpitis que dependiendo de la gravedad puede llegar hasta causar necrosis e incluso una enfermedad endoperiodontal. También se ha comprobado que las bacterias pueden llegar e infectar a la pulpa a través de los túbulos dentinarios expuestos en la superficie radicular cervical, a causa de desgarros en cubierta de cemento, la microbiota de la enfermedad endodóntica es mucho muy extensa y conforme se ha avanzado en las técnicas de cultivo e identificación microbiana se ha encontrado una flora que puede sobrepasar a más de 400 especies<sup>1</sup>.

Larz y Spangberg<sup>2</sup>, en su libro *Experimental Endodontics* efectuaron la siguiente clasificación de los gérmenes encontrados en los conductos radiculares:

*Bacterias Gram positivas (+).*

Se encontraron cocos aerobios, anaerobios y facultativos, entre éstos destacan los *Streptococcus milleri*, *mitior*, *mutans*, *sanguis* y *faecalis*.

En el grupo de los bacilos Actinomiyces: *A. naeslundii* y *A. viscosus*.

*Bacterias anaerobias Gram. Positivas:*

*Streptococcus constellatus*, *intermedius* y *morbiliorum*

*PeptoStreptococcus anaerobios*, *magnus*, *micro* y *prevotii*

Actinomyces: *A. israelii*, *A. meyeri* y *A. odontolycus*

*Arachnia propionica*

Eurobacterium: *E. alactolycium*, *E. brachy*, *E. lentum*, *E. nodatum* y *E.*

*Timidum*

*Lactobacillus*: *L. catenaforme* y *L. minutus*

*Propinobacterium*: *P. acnes*

*Bacterias Gram negativas (-)*

*Bacterias aerobias, anaerobias y facultativas*

Capnocytophaga: *ochracea*

*Eikenella*: *corrodens*

*Campylobacter*: *sputorum*

*Bacterias Gram negativas (-) Anaerobias*

*Cocos.*

*Veillonella*: *perbula*

*Bacilos.*

*Prevotella.*

Porphyromonas: buccae, dentícola, endodontalis, gingivallis, intermedia  
loeschei. oralis, oris y B. ureoliticus  
Fusobacterium nucleatus  
Selenomonas sputigena  
Wolinella recta y curva

Los gérmenes que con mayor frecuencia están presentes en los conductos radiculares son: Estreptococcus alfa, beta y gama-hemolíticos y Staphylococcus aureus<sup>3</sup>. En las lesiones periapicales sintomáticas e inflamatorias los microorganismos anaerobios Gram negativos son el principal factor etiológico. Estos microorganismos son responsables de la inhibición quimiotáctica y fagocítica de los neutrófilos, interfieren en la síntesis de anticuerpos y también con la acción de los antibióticos<sup>4</sup>, además de ser productores de enzimas y endotoxinas lo que da como resultado su persistencia y el dolor periapical.

En estudios recientes se ha demostrado en este tipo de lesiones la presencia de gérmenes facultativos, que son capaces de vivir tanto en ausencia como en presencia de oxígeno<sup>4</sup>.

Entre estos microorganismos están las Enterobacterias, Escherichia coli, Proteus y Klebsiella. Otro hallazgo de suma importancia es la presencia de Pseudomonas y de Streptococcus faecalis en las infecciones persistentes.<sup>4</sup>

Por lo tanto la irrigación juega un papel muy importante en el tratamiento de conductos, ya que además de ayudar en el trabajo biomecánico, el irrigante ayuda a reducir la carga bacteriana contenida en el conducto.

Los requisitos ideales con los que debe cumplir un irrigante son<sup>5</sup>:

1. Limpieza o arrastre físico de trozos de pulpa, sangre líquida o coagulada, virutas de dentina, plasma, exudados, restos alimenticios etc., con el fin de evitar el taponamiento del conducto.
2. Disolución, de agentes orgánicos e inorgánicos del conducto radicular, incluyendo la capa de desecho que se produce en la superficie de la dentina por la acción de los instrumentos y se compacta al interior de los túbulos dentinarios.
3. Acción antiséptica o desinfectante, y lubricante para evitar la ruptura de los instrumentos endodónticos.
4. Acción blanqueante, debido a la presencia de oxígeno liberado<sup>5</sup>.

Diversas sustancias han sido usadas a lo largo de la historia tratando de obtener la solución idónea para lograr este fin y tenemos fundamentalmente las siguientes:

Soluciones químicamente inactivas: Solución salina, agua, soluciones anestésicas.

- Solución Salina: Ha sido recomendada por algunos pocos investigadores, como un líquido irrigador que minimiza la irritación y la inflamación de los tejidos. En concentración isotónica, la solución salina no produce daños conocidos en el tejido y se ha demostrado que expelle

los detritos de los conductos con tanta eficacia como el hipoclorito de sodio. Produce gran debridamiento y lubricación. Esta solución es susceptible de contaminarse con materiales biológicos extraños por una manipulación incorrecta antes, durante y después de utilizarla. La irrigación con solución salina sacrifica la destrucción química de la materia microbiológica y la disolución de los tejidos mecánicamente inaccesibles. La solución salina isotónica es demasiado débil para limpiar los conductos concienzudamente<sup>11</sup>. Algunos autores concluyen que el volumen de irrigante es más importante, que el tipo de irrigante, y recomiendan el uso de una solución compatible biológicamente tal como la solución salina, pero ésta tiene poco o ningún efecto químico y depende solamente de su acción mecánica, para remover materiales del conducto radicular. En general esta sustancia es la más benévola con el tejido dentro las soluciones de irrigación. El efecto antibacteriano y su disolución de tejido es mínima si se compara con el peróxido de hidrógeno, o el hipoclorito de sodio<sup>6</sup>.

- Agua y Solución Anestésica: Estas sustancias químicamente inactivas no han mostrado ser eficaces en la remoción eficiente de detritos, bacterias, y por el contrario contribuyen a la formación de barrillo dentinario posiblemente contaminado. De igual manera, aparte de una acción de lavado, no ofrece ningún beneficio durante la irrigación, aunque por medio de la acción hipotónica de estas soluciones, pueden lisar bacterias sin paredes celulares, sin embargo, las bacterias encontradas en los conductos radiculares típicamente tienen paredes celulares<sup>15</sup>.  
La solución anestésica puede ser utilizada para controlar el sangrado profuso<sup>6</sup>.

#### Soluciones químicamente activas:

- Enzimas: estreptoquinasa, estreptodornasa, papaína enzymol y tripsina.
  - Ácidos: a. fosfórico al 50%, a. sulfúrico al 40%, a. cítrico de 6 a 50%, a. láctico al 50%, a. clorhídrico al 30%.
  - Alcalis: Hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio en agua (agua de cal), urea, hipoclorito de sodio de 0,5% a 5,25%.
  - Agentes quelantes: sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético del 10 al 15% (EDTA), sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con peróxido de urea (RC-Prep), sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con Cetavlon o bromuro de cetil-trimetilamonio (EDTAC), acetato de bisdequalinium (Salvizol), largal ultra.
  - Agentes oxidantes: peróxido de hidrógeno al 3% y peróxido de urea (Gly-Oxide)
  - Agentes antimicrobianos: clorhexidina del 0,2 al 2%
  - Detergentes: lauril sulfato sódico (tergentol)
- También se han utilizado otras soluciones como Cloramina T al 5%, Yodopax al 0,4%, Biosept al 0,1% e Hibitane al 0,1%.

Ningún irrigante solo ha demostrado ser capaz de disolver material pulpar orgánico, predentina y desmineralizar la porción calcificada orgánica de las paredes del conducto<sup>7</sup>.

De todos estos diversos agentes mencionados, ninguno ha sido tan eficaz como la solución de hipoclorito de sodio al 5,25%.<sup>7</sup>

- **Peróxido de Hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):** Es un ácido débil, con propiedades desinfectantes. En endodoncia generalmente se utiliza al 3%. Su mecanismo de acción se debe a la efervescencia que produce, ya que la liberación de oxígeno destruye los microorganismos anaerobios estrictos, y el burbujeo de la solución cuando entra en contacto con los tejidos y ciertas sustancias químicas, expulsa restos tisulares fuera del conducto. Su mejor efecto antibacterial lo demuestra en concentraciones 1/10, muestra habilidad en el desalojo de tejido pulpar necrótico y detritos dentinales cuando la solución se deja en contacto íntimo con las paredes del conducto radicular. El mayor efecto antibacterial del peróxido de hidrógeno es atribuido, entonces, a su acción oxidativa<sup>7</sup>, ya que la reacción de iones superoxidantes que producen radicales hidroxilos atacan la membrana lipídica, ADN y otros componentes celulares. Su acción antimicrobiana consiste en el resultado de la oxidación de los grupos sulfidrilos y dobles cadenas en proteínas, lípidos, y superficies de membrana. De igual manera se utiliza el peróxido de hidrógeno junto con el hipoclorito de sodio. Cuando se irriga en un conducto lleno de hipoclorito de sodio, se produce una efervescencia en la que los dos productos químicos liberan oxígeno y causan una fuerte agitación de los contenidos del conducto. Las burbujas de oxígeno se elevan hasta la apertura de acceso, llevando consigo los detritos sueltos. Ambos productos químicos, producen la disolución de algunos tejidos y la destrucción bacteriana<sup>5</sup>. Por otro lado, se ha encontrado que el uso del hipoclorito de sodio solo es más efectivo como agente antimicrobiano, que cuando se usa de forma alternada con otras soluciones, como el peróxido de hidrógeno.<sup>8</sup>
- **Enzimas:** Llamadas también fármacos proteolíticos o fibrinolíticos, son enzimas de diversos orígenes, que tienen la acción farmacológica común de favorecer la eliminación de los exudados purulentos, disminuir la viscosidad de los edemas, facilitar la llegada de los antibióticos y mejorar la evolución del trastorno inflamatorio. Las más conocidas son: la tripsina y quimiotripsina, las cuales aceleran la cicatrización por lisis de los tejidos necrosados, al mismo tiempo que respetan los vivos. La tripsina actúa separando los aminoácidos alifáticos: lisina, arginina e histidina, mientras que la quimiotripsina separa los de la serie aromática: tirosina, triptófano, fenilalanina, etc.<sup>8</sup> Otras enzimas son la estreptoquinasa y estreptodornasa, las cuales son obtenidas de los cultivos de ciertas cepas de estreptococos. Aunque ambas enzimas son proteolíticas, la estreptoquinasa actúa especialmente como fibrinolítico de manera indirecta, activando el plasminógeno normal en la sangre, y transformándolo en plasmina, que a su vez provocaría la fibrinólisis. La estreptodornasa actúa sobre el

ácido desoxirribonucleico y la desoxirribonucleo-proteína (componentes principales de los exudados purulentos) y logra una licuefacción de los exudados espesos y viscosos que se transformarían en líquidos más fluídos. Ambas enzimas pueden ser utilizadas para remover coágulos, exudados fibrinosos, y purulentos de procesos inflamatorios, y así facilitar la acción de agentes antimicrobianos, y mejorar la reparación de los tejidos. Más no actúan sobre tejidos vivos<sup>9</sup>.

- **Ácidos:** Muchos ácidos han sido empleados durante la irrigación de los conductos radiculares como son: el A. Sulfúrico al 40%, el A. Fosfórico y láctico al 50%, A. Clorhídrico al 30%. El más utilizado y estudiado ha sido el ácido cítrico en concentraciones de 6-50%. Este ácido es un agente quelante que reacciona con los iones metales para formar un quelato soluble no iónico. Algunos estudios han demostrado propiedades antimicrobianas del ácido cítrico en concentraciones de 0.5, 1 y 2 M, especialmente contra anaerobios facultativos y obligados. La principal desventaja de esta solución es su bajo ph, por lo que lo hace biológicamente menos aceptable que su análogo: el EDTA<sup>19-6</sup>. El ácido cítrico es efectivo en la remoción del barro dentinario en concentraciones de 10, 25 y 50%. El uso como irrigante se basa en dos observaciones: primero, por su bajo ph, este actúa como agente quelante sobre la dentina, y segundo porque éste ocurre naturalmente en el cuerpo, lo cual lo hace más biológicamente aceptable que otros ácidos. Aunque demuestra efectividad antibacterial, no justifica su uso como irrigante solamente durante la preparación químico-mecánica; éste puede ser utilizado en combinación con el hipoclorito de sodio, ya que puede resultar en la eliminación de microorganismos y al mismo tiempo en la disolución de remanente orgánico y del barro dentinario, pero el EDTA lo supera en estos casos, al ser una sustancia más biocompatible y de comparable acción<sup>10</sup>.
- **Álcalis:** En este grupo se encuentra básicamente al hidróxido de calcio (lechada de cal):  $\text{Ca(OH)}_2$ , el cual ha sido sugerido como un solvente de tejido. Éste ha sido usado como irrigante y también como un agente alterador de tejido in Vitro. El  $\text{Ca(OH)}_2$  ha sido usado solo, o en conjunto con el hipoclorito de sodio, lo cual muestra un marcado efecto de solubilización. Sin embargo, el  $\text{Ca(OH)}_2$  muestra que su acción es de forma lenta, y la degradación de tejido conectivo incompleta<sup>11</sup>. La habilidad del medicamento de disolver y difundirse a través del conducto radicular puede verse como esencial para su acción exitosa. Una suspensión acuosa saturada de hidróxido de calcio posee un alto ph, el cual tiene un gran potencial citotóxico. Sin embargo, esta sustancia debe su biocompatibilidad a su baja solubilidad en el agua y difusibilidad. Por estas propiedades la citotoxicidad está limitada al tejido que esté en contacto con el hidróxido de calcio. Por otro lado, la baja solubilidad y difusibilidad de esta sustancia puede dificultar el rápido incremento en el ph para eliminar las bacterias localizadas dentro de los túbulos dentinales y áreas de difícil acceso. Además, la habilidad buffer del tejido controla los cambios de ph. Por estos factores, el hidróxido de calcio es un antiséptico de acción lenta. La prolongada exposición puede

llevar a la saturación de la dentina y tejido remanente. Teóricamente, el uso a largo plazo del hidróxido de calcio, puede ser necesario para obtener un conducto libre de bacterias. Sin embargo, el uso de rutina de un medicamento intraconducto por largos períodos de tiempo, no es aceptable en la endodoncia moderna<sup>12</sup>.

- Agentes Antimicrobianos: En este grupo se encuentra básicamente a la clorhexidina, la cual es un antiséptico bisbiguanídico de molécula simétrica compuesta de dos anillos clorofenólicos, y dos grupos de biguanida conectados por un puente central de hexametileno. Este compuesto es una base fuerte y dicatiónica a niveles de pH de más de 3.5, con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno. La naturaleza dicatiónica de la clorhexidina la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo cual es relevante para su eficacia, seguridad, y efectos secundarios locales. Esta solución puede aparecer como digluconato, gluconato o acetato de clorhexidina, sin que parezcan existir diferencias en cuanto al mecanismo de acción en sus diferentes formas químicas, aunque sí se han encontrado en su concentración. Las características claves en relación con la muerte de bacterias por parte de la acción de la clorhexidina se resumen básicamente en tres mecanismos:

Absorción. La solución se absorbe a la célula debido a la carga negativa de la pared celular bacteriana. La cantidad absorbida, depende de la concentración utilizada, luego, a mayor concentración, mayor acción sobre los microorganismos.<sup>13</sup>

Daño de las barreras de permeabilidad en la pared celular. La absorción conduce a una alteración de la movilidad electroforética y del intercambio iónico, originando trastornos metabólicos de las bacterias<sup>14</sup>.

Precipitación proteica en el citoplasma bacteriano. La sustancia después de actuar sobre los componentes de la membrana bacteriana puede ocasionar y facilitar una disociación de los componentes intracelulares, logrando una precipitación e inactivando sus procesos reproductivos y vitales.<sup>15</sup>

Como irrigante endodóntico es utilizado al 0.12% o 2%, demostrando propiedades antibacterianas como el hipoclorito de sodio, pero a diferencia de éste, continúa su liberación por un período de 48 a 72 horas posterior a la instrumentación<sup>20-15</sup>. Si es utilizado al 0.2% causa mínima toxicidad al tejido, sin embargo éste no disuelve el tejido pulpar. Aunque su prolongada presencia dentro de un conducto puede ayudar a la acción antibacterial.<sup>16</sup>

La clorhexidina puede ser usada como una alternativa en la irrigación durante la terapia endodóntica. Sus excelentes propiedades antibacterianas indican que puede ser un buen sustituto en pacientes alérgicos al hipoclorito de sodio, y en adición en dientes con ápices muy abiertos. La irrigación en tales dientes con hipoclorito de sodio puede generarse una extrusión de la solución más allá del ápice y causar una inflamación periapical excesiva; que en similares condiciones, la clorhexidina puede ser inocua<sup>17</sup>.

Debido a que la clorhexidina carece de efecto disolvente de tejido, es posible combinarla con quelantes u otras soluciones irrigadoras, como el

hipoclorito de sodio, ya que se puede favorecer: la acción antimicrobiana, la disolución de tejido, y una solución menos tóxica. Estudios han reportado que el uso alterno de hipoclorito de sodio (NaOCl) y gluconato de clorhexidina resulta en un mejor porcentaje de reducción de la flora microbiana (84.6%), comparado con el uso individual del NaOCl (59.4%), o gluconato de clorhexidina (70%). La posible razón puede deberse a la siguiente reacción:

- La clorhexidina es una base, y es capaz de formar sales con un número de ácidos orgánicos.
- El hipoclorito de sodio es un agente oxidante capaz de oxidar el gluconato a ácido glucónico. El grupo cloro puede ser adicionado al componente guanina de la molécula de clorhexidina, formando "cloruro de clorhexidina".

Si esto pasara, se puede incrementar la capacidad ionizante de la molécula de clorhexidina y la solución puede elevar su ph., de la siguiente manera: 2.5% NaOCl=9, 0.2% gluconato de clorhexidina=6.5, y la combinación de las soluciones=10. Entre otras propiedades de la clorhexidina son: baja tensión superficial: por lo que puede penetrar en conductos accesorios, y túbulos dentinales hasta una profundidad de 100mm<sup>15</sup>, no es cáustico como el NaOCl<sup>18</sup>, relativamente inocua, de fácil almacenamiento y manipulación.<sup>19</sup>

- Hipoclorito De Sodio: Las propiedades desinfectantes del cloro fueron primero reconocidas a comienzos del siglo XIX. El hipoclorito de sodio (NaOCl) fue primero recomendado como una solución antiséptica por Henry Dakin para la irrigación de heridas para los soldados en la primera guerra mundial. Posteriormente, en 1920, se describió la solución de Dakin, 0.5% NaOCl, en la terapia endodóntica. El NaOCl es aún el irrigante más utilizado en la endodoncia moderna por sus propiedades antibacterianas, lubricativas, y disolvente de tejido<sup>20</sup>. El hipoclorito de sodio 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:  
$$\text{NaOH} + \text{HOCl} = \text{NaOCl}$$

El hipoclorito de sodio es hipertónico (2800mOsmol/Kg.) y muy alcalino (ph= 11.5 a 11.7). La actividad solvente, y las propiedades antimicrobianas son debidas primariamente a: a) la habilidad del hipoclorito de sodio de oxidar e hidrolizar las proteínas celulares, b) la liberación de cloro, para formar ácido hipocloroso, y c) a largo plazo, su habilidad osmótica de extraer líquidos fuera de las células<sup>21</sup>.

Ventajas: Los beneficios que proporciona el hipoclorito de sodio como irrigante durante la terapia endodóntica son: efectividad para eliminar el tejido vital y no vital, con un amplio efecto antibacteriano, destruyendo bacterias, hongos, esporas y virus<sup>18</sup>, es excelente lubricante y blanqueador, favoreciendo la acción de los instrumentos, posee una tensión superficial baja, vida media de almacenamiento prolongada, y es poco costoso.<sup>22</sup> En algunos estudios se ha demostrado que la capacidad

de penetración de este irrigante en los túbulos dentinales, depende directamente de la concentración utilizada.

Desventajas: Es un agente irritante, citotóxico para el tejido periapical<sup>23</sup>, el sabor es inaceptable por los pacientes, y por sí solo no remueve el barro dentinario, ya que sólo actúa sobre la materia orgánica de la pulpa y la predentina.<sup>24</sup>

Mecanismo De Acción: Su uso en clínica es generalizado en concentraciones que van desde 0.5% hasta el 5.25%. El proceso químico por el cual el NaOCl realiza su acción antimicrobiana ocurre cuando entra en contacto con las proteínas tisulares, haciendo que se formen hidrógeno, formaldehído y acetaldehído. Las cadenas peptídicas se rompen para disolver las proteínas; en este proceso el hidrógeno es sustituido por el cloro con formación de cloramina, que interviene directamente como antimicrobiano, ya que interfiere en la acción oxidativa celular con inactivación enzimática irreversible en la degradación de lípidos y ácidos grasos; de este modo se disuelve el tejido necrótico y el NaOCl penetra y limpia mejor las áreas infectadas.<sup>25</sup>

La concentración del NaOCl es otro factor importante en el deterioro de las soluciones. Las soluciones que contienen 5% disponible de cloro han demostrado rápida descomposición a 24°C. Sin embargo, similares encuentros no fueron observados en soluciones al 0.5%. De igual manera, el rango de descomposición incrementa donde el ph de la solución disminuye.<sup>20</sup>

Esto resume que el uso de NaOCl en baja concentración (menor al 2.5%) elimina probablemente la infección, pero no puede disolver todo remanente pulpar en un tiempo razonable. En el trabajo publicado por Baumgartner y Mader, no encontraron diferencia significativa entre la acción antimicrobiana entre el hipoclorito de sodio al 2.5% y al 5% y son extremadamente efectivas para eliminar tejido pulpar de las paredes dentinarias, incluso las que no fueron tocadas por limas siempre que se usen concentraciones adecuadas.<sup>7</sup>

Ahora se comprende mejor que la eficacia disolvente del hipoclorito de sodio es influenciada por la integridad estructural del componente conectivo del remanente pulpar. Si la pulpa ya está descompuesta, no llevará mucho tiempo disolver los remanentes de tejido blando. Si la pulpa está viva y se ha producido poca degeneración estructural, el NaOCl necesitará más tiempo para disolver los restos.

- En 1965, Ingle<sup>26</sup> opinó que la irrigación debe realizarse en una secuencia alternada con agua oxigenada y su fase final se hará siempre con el hipoclorito de sodio, para prevenir la formación de gases en el interior de los conductos. De ahí, la importancia de que la última solución irrigante sea el hipoclorito de sodio.

A seguir, en 1943, Grossman propuso una técnica de irrigación de conductos radiculares que resiste a la crítica por cincuenta años y consiste en el uso alternado de una solución de hipoclorito de sodio al 5% con el peróxido de hidrogeno al 3% (10 volúmenes). En esta técnica, la irrigación comienza y termina con la solución de hipoclorito de sodio a



fin de evitar la liberación tardía de oxígeno nascente, o sea, después de la curación entre sesiones. La reacción química entre las soluciones de hipoclorito de sodio y peróxido de hidrógeno libera oxígeno nascente, es efervescente y exotérmica. La exotermia de esta reacción química fue demostrada por Costa en 1986 y Barbin y cols. (1995). El oxígeno nascente generado dentro del sistema de conductos radiculares es importante para la acción antiséptica en contra de microorganismos anaerobios. Auerbach (1953) comparó, por medio de testes bacteriológicos, la eficacia de la técnica de irrigación propuesta por Grossman (1943), obteniendo alto porcentaje de testes negativos inmediatamente después de la instrumentación<sup>27</sup>.

- El Microcyn 60 fué desarrollada por Oculus Inovative Sciens y su filial Oculus Technologies de México, es una solución súper oxidada, es procesada con agua purificada y cloruro de sodio, libre de cloro menos de 10 ppm de sólidos disueltos, es procesada a través de electroquímica o proceso de oxidación-reducción. Esto es comúnmente señalado como una reacción electrolítica o reacción redox, donde la energía eléctrica es utilizada para producir cambios químicos en la solución acuosa (en este caso, el agua altamente purificada libre de cloro).<sup>28</sup>

El agua purificada y la sal (NaCl) son los únicos materiales que se incluyen en su proceso de producción. El resultado final de este proceso es agua altamente oxidada, con pH neutral (7.2 - 7.6) con cantidades controladas de iones de radicales libres.<sup>28,29</sup>

Lo que nos ofrece es un tiempo de antisepsia de alto nivel en 60 segundos eliminando una gran variedad de bacterias Gram+ y Gram- y en 15 minutos una esterilización completa eliminando virus, hongos y esporas.<sup>30</sup>

#### Fórmula de Microcyn 60

Sodio..... < 55 partes por millón

Cloro..... < 80 partes por millón

Hclo..... H<sub>2</sub> O<sub>2</sub>

Clo..... O<sub>3</sub>

Cl..... O<sub>2</sub>

El rango de pH (alcalinidad) de Microcyn 60 es 6.4 a 7.8

El trabajo presentado por el Dr. Flores Martínez, muestra resultados que prueban la efectividad del Microcyn 60 en la esterilización de instrumental odontológico y su efectividad dentro de boca. El utiliza para la prueba del instrumental un equipo de lavado ultrasónico, para determinar si era posible que la solución transmitiera las vibraciones y determinar así si era posible el lavado y esterilizado del instrumental. El instrumental que uso fue un set de instrumental de operatoria dental el cual consistía de pinzas, espejo, explorador, excavador, jeringa y espátula para cements, el cual fue sumergido en la tina del equipo de ultrasonido llenado con Microcyn 60 hasta la línea como lo indica el fabricante, después de un periodo de 15 minutos observó el instrumental limpio así que decidió pasar a la prueba de cultivo, la cual consistió en usar un medio de arrastre sobre la superficie del instrumento con un hisopo, y fue llevada a un medio de cultivo agar-agar, la cual fue cultivado a 36°C por 24 horas, pasado este tiempo se observo un crecimiento negativo en toda la placa. La siguiente prueba consistió en un set de limas de endodoncia y fresas, todas completamente sucias con residuos de dentina resultado de la instrumentación, se colocaron en un vaso de policarbonato y llenado con la solución de Microcyn 60 y llevado al interior de la tina del equipo ultrasónico, después de 30 minutos los instrumentos ya limpios y libres de residuos tomo 2 al azar y fueron llevados al cultivo uno de agar-agar, y otro de agar-sangre y de igual manera se tomo una muestra por arrastre de hisopo y dejo el instrumento dentro del mismo cultivo.

Después de 24 horas a 36°C, no observó crecimiento alguno dentro de los medios de cultivo. Con estos resultados el concluye que el Microcyn 60 es efectivo para el uso con el equipo ultrasónico para la limpieza del instrumental y para la esterilización de este. Además sugiere su aplicación en diferentes áreas de la odontología debido a que no es toxico y no irrita ni piel ni mucosas y tiene un ph neutro lo recomienda como irrigante en cirugía bucal, en endodoncia sustituyendo al hipoclorito de sodio al 2.5%, en periodoncia en vez de los colutorios de gluconato de clorhexidina al 0.012%, etc. Y para cada uno describe un protocolo de aplicación, en el caso de la endodoncia lo sugiere como irrigante por sus cualidades antes mencionadas ya que además de cumplir con las indicaciones de un irrigante jamás causará daño en los tejidos del paciente.

Para este estudio usó instrumentos rotatorios, combinados a la técnica de instrumentación crown-down y el irrigante lo uso alternado después de el uso de cada instrumento, el paciente en el cual lo hizo presentaba odontalgia de premolares inferiores e inflamación facial ligera, clínicamente restauración metálica con deficiente sellado marginal, radiograficamente lesión en periapical, pruebas de vitalidad negativas y el diagnostico fue de necrosis pulpar séptica.

Hizo el tratamiento de conductos encontrando tejido pulpar necrótico y exudado purulento en el acceso, procedió a hacer la instrumentación con los instrumentos rotatorios y el Microcyn 60 como irrigante alternando cada instrumento con la solución, obturó con técnica de condensación lateral y cemento a base de hidróxido de calcio y resina epoxi, sin recetar ningún medicamento. Y a los 5 días determina su efectividad con la toma de una radiografía en la cual observa disminución de la lesión periapical. Este procedimiento lo repitió con 20 casos mas y reporta que en un 45% de los casos no mostraron una resolución tan significativa en la lesión ósea ya que no logro una infiltración a los tejidos periapicales pero si hubo resolución en un

periodo entre 2 a 5 meses. Pero en el 100% de los casos remitieron los síntomas a las 24 horas posteriores a la instrumentación sin antibióticos, analgésicos ni desinflamatorios.

Realizo cultivos en agar-sangre de los veinte casos con muestras tomadas del interior del conducto después de ser instrumentado e irrigado con esta solución, tomo la muestra con un condensador lateral estéril y realizo un arrastre con un hisopo en la punta del instrumento el cual fue llevado al cultivo y a las 48 horas de cultivo a 36° no hubo crecimiento y concluye diciendo que esta solución nos brinda un margen de seguridad total para el manejo dentro de los conductos radiculares, además de una regeneración de la zona mas rápida y que por su tensión superficial igual al del agua este irrigante puede penetrar en los túbulos dentinarios favoreciendo la eliminación de bacterias, haciéndolo así un irrigante de conductos antiséptico optimo.<sup>31</sup>



## **OBJETIVOS:**

Determinar la capacidad antimicrobiana del Microcyn 60.

Comparar la susceptibilidad de el *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosas* y *Bacilos subtilis*, al Microcyn 60 e Hipoclorito de sodio al % y 2.5%

Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del Microcyn 60 e Hipoclorito de sodio para, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosas* y *Bacilos subtilis*.

## **HIPÓTESIS**

**HIPÓTESIS DE TRABAJO:**

El Microcyn 60 tiene mayor y mejor efecto bactericida que el Hipoclorito de Sodio

$$X1 > X2$$

**HIPÓTESIS NULA:**

El Microcyn 60 tiene menor efecto bactericida que el Hipoclorito de Sodio

$$X1 < X2$$

## MATERIAL Y METODO

- ❖ Bacteria Pseudomonas aeruginosas, Enterococo faecalis, y Bacilo Subtilis.
- ❖ Infusión cerebro corazón (BHI) marca BBL.
- ❖ Ácido sulfúrico.
- ❖ Cloruro de Bario.
- ❖ Solución Salina Isotónica
- ❖ Agua bidestilada.
- ❖ Hipoclorito de Sodio al 2.5%.
- ❖ Hipoclorito de Sodio al 5 %
- ❖ Microcyn 60
- ❖ Nefelómetro
- ❖ 11 tubos con tapón de rosca (Pyrex).
- ❖ 10 tubos de ensaye de 13 x 100 (Pyrex).
- ❖ 11 matraces nefelométricos de 100 ml.
- ❖ Matraz de 50 ml.
- ❖ 10 cajas petri con Gelosa sangre.
- ❖ Asa bacteriológica.
- ❖ Mechero de Bunsen.
- ❖ Estufa de cultivo.
- ❖ Autoclave.
- ❖ Micropipeta de 1000 y 200 microlitros.
- ❖ Sensidiscos
- ❖ Juego de tinción de Gram Cristal violeta , lugol, alcohol acetona, y zafranina
- ❖ 2 placas de dilución.
- ❖ Computadora Pentium II con procesador Celerón
- ❖ Paquetería estadística de Excel

## **METODOLOGÍA:**

El presente trabajo se efectuó en el Cepario de la Facultad de Química del Campus de Ciudad Universitaria.

Consistió en comprobar la efectividad bactericida del Microcyn 60 e Hipoclorito de sodio sobre cepas clasificadas que conforme a los reportes de la literatura endodóntica, se ha demostrado que son causantes de los fracasos de los tratamientos endodónticos.

*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosas* (ATCC 27853) y Bacilo Subtilis (ATCC 6633) donadas por el cepario de la Facultad de Química de la UNAM.

## **FASE I EXPERIMENTAL:**

### **Fase I**

#### **1. Hidratación de cepas liofilizadas**

Esta fase se efectuó dentro de una campana de flujo laminar, el primer paso consistió en la desinfección de las ampollitas que contienen las cepas liofilizadas, mediante el uso de etanol al 96%, posteriormente bajo la flama de un mechero se procede a abrir las ampollitas y el liofilizado se hidrata con infusión Cerebro Corazón (BHI) hasta lograr una mezcla homogénea. La mezcla se introduce en un tubo de ensayo con tapón de rosca y se incuba a 37<sup>0</sup>C durante 24 hrs. Y se observa si existe crecimiento por enturbiamiento

#### **COMPROBACIÓN Y VIABILIDAD DE LAS CEPAS BACTERIANAS**

Obtenido el crecimiento bacteriano, se procedió sembrar las cepas en agar gelosa sangre, utilizando el método de sembrado en estrías por agotamiento, se incubo la caja de petri a 37° C por 24 hrs, al cabo de este periodo, se procede efectuar la tinción de Gram, con una azada previamente calentada se procede a tomar una colonia aislada del cultivo, la cual es colocada en un porta objetos el cual va a contener una gota de agua bidestilada con esta gota se va a expandir la colonia y posteriormente se fija con calor, para teñirlas con la tinción de Gram que consiste en: Poner colorante a base de cristal violeta por un minuto, decantar con agua corriente, para posteriormente añadir lugol por otro minuto y lavar con alcohol acetona y después con agua corriente y por último se le agrega azafrana, dejándola por un minuto, lavar con agua,



esperar a que seque para posteriormente observar al microscopio óptico ( Carl Zeiss)

La coloración azul nos indica que los gérmenes a observar son Gram positivos y la coloración rojiza que son Gram negativos.

Efectuado este procedimiento se procedió a efectuar las pruebas bioquímicas específicas para cada cepa bacteriana

Los resultados fueron los siguientes;

Cuadro 1. Pruebas bioquímicas para verificar la identificación bacteriana

Cepa bacteriana	Morfología	Tinción de Gram	Citocromo oxidasa	Catalasa	Crecimiento en BHI + NaCl 5,5	O/F de glucosa
<i>P. aeruginosas</i>	Bacilo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	+/-
<i>S. faecalis</i>	Coco	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	NR

O – Oxidación

F – Fermentación

NR – No realizado

Bacilo subtilis:

La coloración de Gram muestra células con áreas no teñidas que sugieren esporos, estos se pueden confirmar mediante coloración de esporos o por contraste de fase. El grupo *B. subtilis* se caracteriza por ser todos sus miembros móviles y con reacción negativa para la lecitinasa en medio agar yema de huevo.

Obtenidas las cepas bacterianas puras, se procedió a preparar suspensiones en Infusión cerebro-corazón (BHI) con la estandarización de McFarland para obtener la escala al 0.5 ( $1.5 \times 10^8$  bacterias /mL).

Para la estandarización de la escala de McFarland se requirió de un nefelómetro y la preparación de 11 tubos de ensaye con disoluciones de ácido clorhídrico y cloruro de bario en concentraciones que van de 0.5 a 10 (cuadro 1 anexos) y un tubo control que solo contiene agua bidestilada, se coloca el contenido de cada tubo a un matraz nefelométrico y se hace la medición en el nefelómetro, se toman las lecturas de cada tubo, esto es para obtener una curva de concentraciones ya que el nefelómetro mide la turbidez de la solución atravesando un haz de luz y así obtiene la medida de concentración.

Las lecturas obtenidas del nefelómetro se convierten a unidades Klett y su formula es la siguiente:  $1 \text{ unidad Klett es igual a } \frac{*DO}{=.002}=1 \text{ Klett}$  cuadro 2 (anexos).



Fig. 1 Tubos preparados a la escala Macfarland.



Fig. 2 Nefelómetro, mide la concentración por densidad óptica.

Preparación bacteriana a la escala de McFarland al 0.5:

Para lograr estas suspensiones se transfiere una asada de bacterias a un matraz nefelométrico con 100 ml de infusión cerebro-corazón estéril, la cual es agitada hasta obtener una turbidez homogénea, igual a la del tubo de ensaye 0.5 de la escala de McFarland, y se mide en el nefelómetro.

Tubo	Lectura en Nefelómetro	Unidades Klett
.5	3	1500

Obtenidas las bacterias y medidas en el nefelómetro con una lectura de 3 se procede a cultivarlas en una caja petri con gelosa sangre con técnica de agotamiento por estrías y se meten a incubar 24 hrs a 37°C.

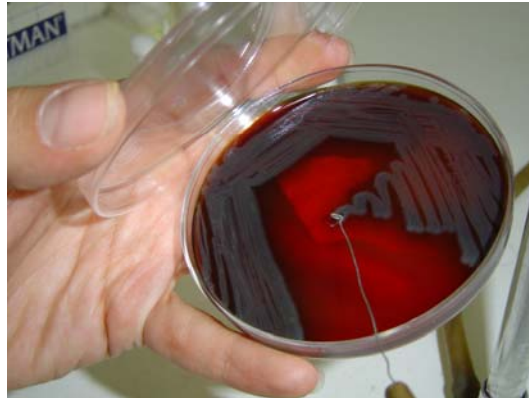


Fig. 3 Cultivo bacteriano en gelosa sangre por técnica de agotamiento por estrías.

## FASE II CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) MÉTODO DE ELISA

La Prueba de Elisa nos permite observar cual es la concentración mínima de un sustancia o medicamento capas de eliminar a una microorganismo o virus. En la prueba de Elisa se utilizan placas con pozos, en las cuales realizamos las pruebas de efectividad del medicamento en diluciones, del Microcyn 60, el hipoclorito al 2.5% y al 5%, este procedimiento se efectuó de la siguiente manera;

Microcyn 60 se toman 8 tubos de 12 x 75 a los cuales se les agregó 500 microlitros de agua bidestilada a cada uno, posteriormente se tomaron 500 microlitros de Microcyn 60 para el primer tubo de esta forma obtuvimos la primer dilución 1:1 oséa 50% de Microcyn 60 y 50% de agua, de este tubo que es el #1 tomamos 500 microlitros de esta dilución y los agregamos al tubo #2 donde ya teníamos 500 microlitros de agua y así obtuvimos la dilución 1:2, ahora de el tubo #2 tomamos 500 microlitros de dilución y los llevamos al tubo #3 para obtener la dilución 1:4, del tubo #3 tomamos 500 microlitros y los llevamos al tubo #4 para obtener la dilución 1:8, del tubo #4 igual se tomaron los 500 microlitros para el tubo #5 logrando la dilución 1:16 , del tubo #5 se tomaron los 500 microlitros y los llevamos al tubo #6 obteniendo la dilución 1:32 y así sucesivamente obteniendo en el tubo #7 la dilución 1:64 y en el #8 la dilución 1:128.

Para el hipoclorito de sodio al 2.5% primero hicimos la concentración del hipoclorito de la siguiente manera se prepararon 50 ml a esta concentración la fórmula fue para obtener una concentración exacta del hipoclorito con una regla de 3:

$$\begin{array}{r} 50\text{ml}—100\% \\ x — 2.5\% \\ x=1.25\text{ml de hipoclorito y } 48.75 \text{ ml de agua} \end{array}$$

Así obtuvimos la concentración midiendo los líquidos con una micropipeta, una vez obtenida, procedimos a preparar los 8 tubos de 12 x 75 con 500 microlitros de agua para hacer las diluciones, tomamos 500 microlitros de la solución del hipoclorito al 2.5% y los agregamos al tubo #1 para obtener la dilución 1:1, del tubo #1 tomamos 500 microlitros y los agregamos al tubo #2 para obtener la dilución 1:2 y así sucesivamente tubo #3 dilución 1:4, tubo #4 dilución 1:8, tubo #5 dilución 1:16, tubo #6 dilución 1:32, tubo #7 dilución 1:64 y tubo #8 dilución 1:128.

Para preparar el hipoclorito al 5% fue el mismo procedimiento realizamos una regla de 3 solo que ahora diferente porcentaje:

$$\begin{array}{r} 50\text{ml}—100\% \\ x—5\% \\ x=2.5 \text{ ml de hipoclorito y } 47.5 \text{ ml de agua} \end{array}$$

Y se realizó el mismo procedimiento que en el Microcyn 60 y en el hipoclorito al 2.5%, para obtener las mismas diluciones de la solución en los 8 tubos de 12 x 75 con 500 microlitros de agua.

Una vez efectuado el procedimiento anterior se realizo. la prueba en la placa de Elisa.

Para la elaboración de esta prueba se utilizó una porción de inocuo que previamente había sido preparado y cultivado el cual fue mezclado en una solución de BHI estéril, agregando pequeñas cantidades del inocuo hasta obtener la escala de MacFarland al 0.5 (3 en el nefelómetro), una vez que se obtuvo esta suspensión se prepara la placa de Elisa.

En la placa se colocaron 100 microlitros de cultivo de la *Pseudomona aeruginosa*, *Enterococo Faecalis* y *Bacilo Subtilis* preparados a la escala de MacFarland al 0.5 los cuales fueron agregados a 9 pozos, los primeros 8 fueron tomados para probar las diluciones mínimas inhibitorias (CMI) del Microcyn 60 y el último pozo fue llenado con Microcyn 60 al 100%, en la siguiente fila de la misma placa se agregaron otros 9 pozos para el hipoclorito de sodio al 5% y se usaron en el mismo orden, los primeros 8 para probar las diluciones y el 9 para la solución al 100%, y en la tercera fila se hace lo mismo se llenan 9 pozos con el cultivo pero ahora para probar el hipoclorito de sodio al 2.5% y se usaron de la forma antes mencionada.

Llenados los pozos de la placa con el cultivo se procedió a colocar los medicamentos de la siguiente manera se tomaron 100 microlitros del Microcyn 60 en su primera dilución 1:1, en el segundo pozo 100 microlitros de la dilución 1:2, en el tercero la dilución 1:4 y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 1:128 en el pozo 8 y el pozo 9 tomamos 100 microlitros de Microcyn 60 pero al 100%.

Este procedimiento fue efectuado de igual manera para el hipoclorito de sodio al 2.5% y al 5%.

Posteriormente estos cultivos se llevaron a la incubadora a 37°C por 24, 48 y 72 horas.

Al cabo de cada lapso de tiempo se observo si hubo inhibición o no y se anotaron los resultados.

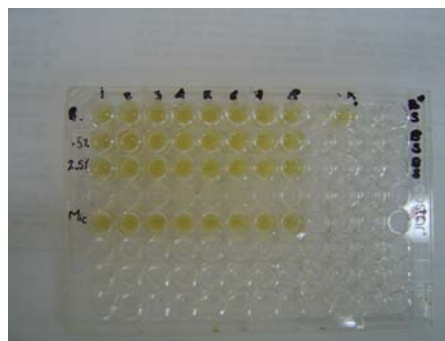


Fig. 4 Prueba de concentración mínima inhibitoria en la placa de Elisa.

## FASE II EXPERIMENTAL

### Prueba De Difusión En Agar. (Sensidiscos)

Para la realización de esta prueba se utilizaron 3 cajas de Petri con agar sangre, además las suspensiones de las bacterias *Pseudomonas Aeruginosas*, *Enterococo Faecalis*, y *Bacilo Subtilis*. En una campana de flujo laminar se procedió hacer una siembra masiva, utilizando un hisopo estéril embebido de la suspensión de las *Pseudomonas aeruginosas*, el cual es frotado en el agar sangre impregnando todas las superficies del cultivo, y posteriormente se

colocaron 3 sensidisos de 5 mm en tres puntos separados, los cuales fueron impregnados con 30 microlitros de cada medicamento de la siguiente manera:

- ❖ En el primer sensidisco se colocó el Microcyn 60
- ❖ En el segundo sensidisco el Hipoclorito de Sodio al 2.5%
- ❖ En el tercer sensidisco Hipoclorito de Sodio al 5%

Lo mismo se realizó en la segunda caja con el Enterococo Faecalis y la tercera con Bacilo Subtilis.

Una vez efectuado este procedimiento, se llevaron las cajas a una estufa de cultivo a una temperatura de 37° C por 24 horas al término de este tiempo se midió el tamaño de los halos de inhibición de cada uno de los sensidisos, con una regla y se anotaron en la bitácora, con estos datos se efectuaron los datos estadísticos de Anova al .05.



Fig. 5 Cultivo bacteriano en gelosa sangre y sensidisos embebidos en Microcyn 60.

## RESULTADOS

### *PSEUDOMONAS AERUGINOSAS*

A las 24 horas

No. Pozo	Microcyn 60	Hipoclorito de sodio 2.5%:	Hipoclorito de sodio 5%
1 dilución 1:1	+	-	-
2 dilución 1:2	+	+	-
3 dilución 1:4	+	+	+
4 dilución 1:8	+	+	+
5 dilución 1:16	+	+	+
6 dilución 1:32	+	+	+
7 dilución 1:64	+	+	+
8 dilución 1:128	+	+	+
9 sin dilución	+	-	-

A las 48 horas

No. Pozo	Microcyn 60	Hipoclorito de sodio 2.5%:	Hipoclorito de sodio 5%
1 dilución 1:1	+	-	-
2 dilución 1:2	+	+	-
3 dilución 1:4	+	+	+
4 dilución 1:8	+	+	+
5 dilución 1:16	+	+	+
6 dilución 1:32	+	+	+
7 dilución 1:64	+	+	+
8 dilución 1:128	+	+	+
9 sin dilución	+	-	-

A las 72 horas estos fueron los cambios:

No. Pozo	Microcyn 60	Hipoclorito de sodio 2.5%:	Hipoclorito de sodio 5%
1 dilución 1:1	+	+	-
2 dilución 1:2	+	+	+
3 dilución 1:4	+	+	+
4 dilución 1:8	+	+	+
5 dilución 1:16	+	+	+
6 dilución 1:32	+	+	+
7 dilución 1:64	+	+	+
8 dilución 1:128	+	+	+
9 sin dilución	+	-	-

En la prueba del Bacilo subtilis los resultados a las 24 horas son los siguientes:

### ***BACILO SUBTILIS***

A las 24 horas

No. Pozo	Microcyn 60	Hipoclorito de sodio 2.5%:	Hipoclorito de sodio 5%
1 dilución 1:1	+	-	-
2 dilución 1:2	+	+	+
3 dilución 1:4	+	+	+
4 dilución 1:8	+	+	+
5 dilución 1:16	+	+	+
6 dilución 1:32	+	+	+
7 dilución 1:64	+	+	+
8 dilución 1:128	+	+	+
9 sin dilución	+	-	-

A las 48 horas los resultados fueron los siguientes:



No. Pozo	Microcyn 60	Hipoclorito de sodio 2.5%:	Hipoclorito de sodio 5%
1 dilución 1:1	+	+	-
2 dilución 1:2	+	+	+
3 dilución 1:4	+	+	+
4 dilución 1:8	+	+	+
5 dilución 1:16	+	+	+
6 dilución 1:32	+	+	+
7 dilución 1:64	+	+	+
8 dilución 1:128	+	+	+
9 sin dilución	+	-	-

A las 72 horas si hubo cambios:

No. Pozo	Microcyn 60	Hipoclorito de sodio 2.5%:	Hipoclorito de sodio 5%
1 dilución 1:1	+	+	+
2 dilución 1:2	+	+	+
3 dilución 1:4	+	+	+
4 dilución 1:8	+	+	+
5 dilución 1:16	+	+	+
6 dilución 1:32	+	+	+
7 dilución 1:64	+	+	+
8 dilución 1:128	+	+	+
9 sin dilución	+	+	+

En la prueba del Enterococo Faecallis los resultados fueron los siguientes:

### ***ENTEROCOCO FAECALIS***

A las 24 horas

No. Pozo	Microcyn 60	Hipoclorito de	Hipoclorito de
----------	-------------	----------------	----------------

		<b>sodio 2.5%:</b>	<b>sodio 5%</b>
<b>1 dilución 1:1</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>2 dilución 1:2</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>3 dilución 1:4</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>4 dilución 1:8</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>5 dilución 1:16</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>6 dilución 1:32</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>7 dilución 1:64</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>8 dilución 1:128</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>9 sin dilución</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

A las 48 horas los resultados fueron los mismos:

<b>No. Pozo</b>	<b>Microcyn 60</b>	<b>Hipoclorito de sodio 2.5%:</b>	<b>Hipoclorito de sodio 5%</b>
<b>1 dilución 1:1</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>2 dilución 1:2</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>3 dilución 1:4</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>4 dilución 1:8</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>5 dilución 1:16</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>6 dilución 1:32</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>7 dilución 1:64</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>8 dilución 1:128</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>9 sin dilución</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

A las 72 horas si hubo cambios:

<b>No. Pozo</b>	<b>Microcyn 60</b>	<b>Hipoclorito de sodio 2.5%:</b>	<b>Hipoclorito de sodio 5%</b>
<b>1 dilución 1:1</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>2 dilución 1:2</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>3 dilución 1:4</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>4 dilución 1:8</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>5 dilución 1:16</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>6 dilución 1:32</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>7 dilución 1:64</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<b>8 dilución 1:128</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>

<b>9 sin dilución</b>	+	+	+
-----------------------	---	---	---

\*Nota: Ante la falta de inhibición del Microcyn 60, se repitió la prueba para tener mayor certeza de que los resultados eran correctos.

\*Todos los controles fueron positivos.

## RESULTADOS DE LA FASE II

En esta fase se midieron los halos de inhibición:

### ***Pseudomonas Aeruginosas***

A las 24 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición

Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 12 mm de diámetro

Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 13 mm de diámetro

A las 48 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición

Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 11 mm de diámetro

Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 13 mm de diámetro

A las 72 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición

Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 10 mm de diámetro

Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 11 mm de diámetro

### ***Bacilo subtilis:***

A las 24 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición

Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 10 mm de diámetro

Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 11 mm de diámetro

A las 48 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición

Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 9 mm de diámetro

Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 10 mm de diámetro

A las 72 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición

Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 8 mm de diámetro  
Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 10 mm de diámetro

***Enterococo Faecalis:***

A las 24 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición  
Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 10 mm de diámetro  
Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 11mm de diámetro

A las 48 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición  
Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 10 mm de diámetro  
Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 11mm de diámetro

A las 72 horas:

Microcyn 60: No tuvo halo de inhibición  
Hipoclorito de sodio al 2.5%: Tuvo 9 mm de diámetro  
Hipoclorito de sodio al 5%: Tuvo 10 mm de diámetro

## **ANALISIS DE RESULTADOS:**

El Microcyn 60 tanto a concentraciones mínimas inhibitorias como a concentraciones al 100% no tuvo ningún efecto bactericida sobre las bacterias *Pseudomonas aeruginosas*, *Bacilo subtilis* y *Enterococo faecalis*.

El hipoclorito de sodio al 5% en la dilución 1:1 (2.5%) fue efectivo con todas las bacterias y en el caso de las *Pseudomonas aeruginosas* su efectividad duró hasta 72 horas, cosa que no sucedió con el *Enterococo faecalis* y el *Bacilo subtilis* cuyo periodo de efectividad fue durante 48 horas.

El hipoclorito de sodio al 5% a concentración 1:2 (1.25%) las *Pseudomonas aeruginosas* tuvieron efecto hasta las 48 horas, en el caso del *B.subtilis* solo las primeras 24 horas tuvo efecto esta concentración y para el *E. faecalis* tuvo efectividad hasta las 48 horas.

En el hipoclorito de sodio al 2.5% en la concentración 1:1 (1.25%) fue efectiva su acción bactericida para las *P.aeruginosas* hasta las 48 horas en el caso del *B.subtilis* solo las primeras 24 horas tuvo efecto y para el *E. faecalis* tuvo efecto 48 horas.

El hipoclorito de sodio al 2.5% a concentración 1:2 (0.625%) no tuvo efecto bactericida sobre ninguna de las bacterias aún en las primeras 24 horas.

Fase II experimental:

En esta fase se efectuó un análisis estadístico Anova con 0.05 grados de libertad, y la F calculada fue de 368.20 y la f de tablas 3.40 lo cual nos indico que si existió diferencia significativa entre los 3 grupos.

A la prueba LSD se observo que el hipoclorito de sodio al 5% fue el mas efectivo de los tres grupos.

(\* Ver tabla de Anova anexo 3)

Debido a los resultados negativos del Microcyn 60 se procedió a realizar una prueba T de student, con un alfa de 5 grados de libertad entre el hipoclorito de sodio al 5% y el hipoclorito de sodio al 2.5% y se obtuvo que la t calculado fue -8.31 y el valor de t de tablas es de 1.85 por lo tanto se tomo la regla de decisión la cual dice que cuando t calculada es menos o igual t de tablas no existe diferencia significativa entre ambas soluciones.

## DISCUSIÓN

Según el Dr. Miguel Ángel Flores Martínez en su artículo publicado en la pagina <http://odontologia-online.com/cgi-bin>, demostró efectividad antibacteriana del Microcyn 60 en la esterilización de instrumental endodóntico, obteniendo resultados favorables, además pregonaba su utilización con buenos resultados como irrigante pulpar, cosa con la cual nosotros no estamos de acuerdo, ya que las pruebas efectuadas en este trabajo no se comprobó efectividad bacteriológica en ninguna de las pruebas realizadas, tanto al instrumental como a la muestra extraída del conducto.

Aunque en nuestro experimento usamos gérmenes que se han reportado como causantes de fracasos endodónticos (*P.aeruginosa* y *E. faecalis*) y que son de difícil eliminación, lo cual pudiese ser la causa de que los resultados obtenidos no fueran positivos para el Microcyn 60, para corroborar lo usamos en un bacilo que es más labil como es el bacilo subtilis, y se obtuvieron los mismos resultados negativos, por lo tanto nosotros consideramos que este material no debe ser utilizado como irrigante pulpar.

Con respecto a la acción bactericida del hipoclorito de sodio encontramos los mismos resultados que el Dr. Baumgartner y Mader, ya que en el este estudio utilizando una prueba estadística de T de student no existe diferencia significativa entre la acción antimicrobiana al 2.5% y al 5% por lo que ambas concentraciones pueden ser utilizadas con plena confianza como irrigante de conductos.

Considero que el sustituto del hipoclorito de sodio que se debe de utilizar en la irrigación de conductos con ápices abiertos, fracturas etc., es la clorhexidina, tal como lo recomienda el Dr. Vahdaty y el Dr Furuya en sus estudios.

## **CONCLUSIONES:**

El Microcyn 60 no tiene efectos bactericidas a ninguna concentración sobre estas bacterias.

El hipoclorito de sodio sigue siendo un irrigante eficaz tanto a concentración de 2.5% como a concentración de 5% esto fue ampliamente comprobado tanto a concentraciones normales como en diluciones (CMI).

El Bacilo Subtilis resulto ser poco susceptible al hipoclorito de sodio ya que las concentraciones mínimas requeridas fueron de 2.5% y 5%, y su efecto solo fue las primeras 24 horas, el hipoclorito de sodio en concentraciones frescas y bien conservado puede mantenerse hasta 72 horas con buenos resultados, si a concentraciones mínimas inhibitorias está dando resultado sobre estos gérmenes, entonces los podemos usar con confianza en el tratamiento de conductos.

Con los resultados obtenidos en esta investigación concluimos que aún con los efectos irritantes que causa el hipoclorito de sodio sobre los tejidos blandos y sus limitantes en el uso de tratamientos endodónticos, los efectos bactericidas ofrecidos por este en sus diferentes concentraciones y tiempos sobrepasan en mucho a los resultados obtenidos por parte del Microcyn 60 lo que nos hace deducir que el Microcyn 60 no es un buen candidato a ser usado como irrigante en la preparación de conductos por que aunque tenga cualidades como baja tensión superficial y un ph neutro sus capacidades bactericidas no lograrían el objetivo que necesitamos para contrarrestar la carga bacteriana posible en un conducto radicular.

## ANEXOS

Cuadro 1.

### ESTANDAR NEFELOMÉTRICO DE MACFARLAND

Tubo	.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cloruro de Bario (ml)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
Ácido Sulfúrico(ml)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0

Cuadro 2.

Tubo	Lectura en Nefelómetro	Unidades Klett
.5	3	1500
1	7	3500
2	11	5500
3	25	12500
4	26	13000
5	35	17500
6	51	25500
7	55	27500
8	78	39000
9	95	47500
10	97	48500

\*DO: Densidad Óptica

Cuadro 3.

		Microcyn 60	NAOCL al 5%	NAOCL al 2.5%
P. Aeruginosas	24 hrs	0	12	13
	48 hrs	0	11	13
	72 hrs	0	10	11
B. Subtilis	24 hrs	0	10	11
	48 hrs	0	9	10
	72 hrs	0	8	10
E. faecalis	24 hrs	0	10	11
	48 hrs	0	10	11
	72 hrs	0	9	10





## BIBLIOGRAFÍA:

1. Cohen, B. Vías de la pulpa. 1999. Ed. Harcourt. Madrid, España. Págs.: 206,207.
2. Larz S.W. Spanberg D.D.S Ph. D. Experimental Endodontics 1990 Charper 6:139
3. Camling and Kohles P.Infection with the bacterium Streptococcus Arch of Oral Biol. 1987 Vol.32 No.11 817-823.
4. Estrela C. Cesar OVS Sydney G.B. Lopez H.P Pesce, H.F. Incidencia de dor frente ao tratamento da inflamacao periapical aguda e cronica Rev. Bras. Odontol. V.53 p.15-19 ago/sept 1996
5. Grossman LI. Meiman BW. Solution of pulp tissue by chemical agents. J Am Dent Assoc 1941, 2:223-225. Comentado en Leonardo MR, Leal JM. Endodoncia. Tratamiento de los conductos radiculares. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana 1994:246-65
6. Leonardo, Mr., Filho, MT. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. J of Endod. 1999. 25:167-171.
7. Baumgartner, Jc. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. J of Endod. 1987. 13:147.
8. Ohara, Pk., Torabinejad, M. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. Endod Dent Traumatol. 1993; 9: 95-100.
9. Masataka, Y., Koichi, Y. Root canal irrigation with citric acid solution. J of Endod. 1996. 22(1): 27-29
10. Yang, S., Rivera, E. Canal debridement: effectiveness of sodium hypochlorite and calcium hydroxide as medicaments. J of Endod. 1996. 22(10): 521-524.
11. Siqueira, J., Lopes, H. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. Int Endod J. 1999. 32:361-369.
12. Vahdaty, T., Pitt, R. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. Endod Dent Traumatol. 1993. 9:243-248.
13. Helling, I., Chandler, P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. Int. Dent. J. 1998. 31: 8-14.

14. Buck, R.A., Eleazer, Pd. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. *J. of Endod* 2001. 27(3): 206-208.
15. Ragno, J., Szkutnik, A. Evaluation of 0.12% chlorhexidine rinse on the prevention of alveolar osteitis. *Oral Surg Oral Med Oral pathol.* 1991. 72:524
16. Sabala, C., Powell, S. Sodium hypochlorite injection into periapical tissues. *J of Endod.* 1989. 15(10): 490-492.
17. Tasman, F., Cehreli, Z. Surface tension of root canal irrigants. *J of Endod.* 2000. 26(10): 586-587.
18. Johnson, B., Remeikis, N. Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. 1993. *J of Endod.* 19(1):40-43.
19. Gambarini G. chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigant. *J of Endod* 1998; 24: 432-4.
20. Hülsmann, M. Irrigación del conducto radicular: objetivos, soluciones y técnicas. *J of Endod Prac.* 1998. Vol 4 (1): 15-29.
21. Cunningham, W. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg.* 1980.49(2): 175-177
22. Di Lenarda, R. Cadenaro, M. Effectiveness of 1 mol-l citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. *Int Endod J.* 2000. 33:46-52.
23. Frai, S. Gulabivala, K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. *Int Endod J.* 2001. 34: 206-215.
24. Ellingsen, J. Rolla and Erihsenti. : Extrinsic dental stain cause by chlorhexidine and other denaturing agents, *J.Clin. Periodontol:* 3:17, 1982
25. Wennberg A. Biological evaluation of root canal antiseptic using in vitro and in vivo methods. *J. Dent. Res* 88(1) 46-52. 1982
26. Ingle JI, Bakland LK. *Endodoncia.* 4ta. Edición. México. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 1996
27. Calt S, Serper A. Smear layer removal by EGTA. *J. Endodon.* 2000; 26(8):459-61
28. Shetty N, Srinivasan S, Holton J, Ridgway G L. Evaluation of microbicidal activity of a new disinfectant: Sterilox ® 2500 against *Clostridium difficile* spores, *Helicobacter pylori*, vancomycin resistant *Enterococcus* species,

Candida albicans and several Mycobacterium species. J Hosp. Infect. 1999; 41: 101-105.

29. Gutierrez JH, Jofré A, Villena F. Scanning electron microscopic study on the action of endodontic irrigants on bacteria invading the dentinal tubules. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1990; 69:491-501.

30. Selkon J B, Babb J R, Morris R. Evaluation of the antimicrobial activity of a new super- oxidized water, Sterilox®, for the disinfection of endoscopes. J Hosp Infect. 1999; 41: 59-70.

31. Dr. Miguel Ángel Flores Martínez Agua Súper Oxidada- Protocolo de Aplicación Odontológico Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia Michoacán Noviembre 2003  
<http://www.odontologia-online.com/cgi->