



**UNIVERSIDAD  
DE IXTLAHUACA CUI**

INCORPORACION CLAVE 8968-22 A LA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**CIRUJANO DENTISTA**

**EFICACIA DE HIPOCLORITO DE SODIO SOBRE COLONIAS DE  
ENTEROCOCCUS FAECALIS A DIFERENTES CONCENTRACIONES**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**CIRUJANO DENTISTA**

PRESENTAN:

Diana Gervacio López  
Margarita Luciano Cayetano

ASESOR DE TESIS:

E. en E. Nancy Aidé Hernández Valdés

IXTLAHUACA, EDO. DE MEXICO, 2021





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.

## Índice

1. Antecedentes	1
1.1 Hipoclorito de sodio	1
1.2 Mecanismos de acción	2
1.2.1 Saponificación	2
1.2.2 Neutralización	2
1.2.3 Cloraminación	3
1.3 Propiedades de un irrigante ideal	3
1.4 Propiedades del hipoclorito de sodio	3
1.4.1 Blanqueador	3
1.4.2 Disolvente de tejido orgánico	3
1.4.3 Antimicrobiano	4
1.4.4 Lubricante	4
1.5 Factores que afectan las propiedades del hipoclorito de sodio	5
1.5.1 Potencial de hidrógeno	5
1.5.2 Temperatura	5
1.5.3 Tiempo de trabajo	5
1.5.4 Disolución	5
1.6 Accidentes durante el uso de hipoclorito de sodio en la limpieza y conformación de conductos radiculares	6

1.6.1 Proyección accidental del hipoclorito de sodio hacia los tejidos periapicales	6
1.6.2 Contacto directo de hipoclorito de sodio a tejidos blandos	7
1.6.3 Contacto ocular	7
1.7 Vías de invasión bacteriana	8
1.7.1 Túbulos dentinarios	8
1.7.2 Exposición de la pulpa	8
1.7.3 Enfermedad periodontal	8
1.7.4 Anacoresis	9
1.8 Infecciones en endodoncia	9
1.8.1 Infecciones intrarradiculares	10
Infecciones endodónticas primarias	10
Infecciones endodónticas secundarias	12
Infecciones endodónticas recurrentes	12
1.8.2 Infecciones extrarradiculares	14
1.9 Patogenicidad y virulencia	14
1.10 Técnicas de irrigación	14
1.10.1 Sistemas de agitación manual	15
Administración con jeringa	15
Irrigación activada manualmente	16

1.10.2 Sistemas de agitación ayudada por máquinas	16
Irrigación activada sónicamente	16
Irrigación ultrasónica	16
1.11 Enterococcus faecalis	17
1.11.1 Factores de virulencia	17
Sustancia de agregación (AS)	17
Hemolisina	17
Gelatinasa	18
Hialuronidasa	18
2. Planteamiento del problema	19
3. Justificación	20
4. Hipótesis	21
5. Objetivos	22
5.1 Objetivo general	22
5.2 Objetivos específicos	22
6. Materiales y métodos	23
6.1 Diseño de estudio	23
6.2 Universo de estudio	23
6.3 Muestreo	23
6.4 Criterios de inclusión, exclusión, eliminación	23

Criterios de inclusión	23
Criterios de eliminación	24
6.5 Variables	24
Variable independiente	24
Variable dependiente	24
6.6 Consideraciones bioéticas	25
6.7 Procedimiento	26
Selección del microorganismo de estudio	26
Material suministrado por la Universidad	27
Materiales no suministrados por la universidad	28
Control de calidad	29
Procedimiento aséptico	29
Preparación y esterilización del material de vidrio	30
Preparación y esterilización de medios de cultivo	30
Agar Soya Trypticaseina 3/3B36-B	30
Caldo neutralizante	31
Siembra o inoculación para el cultivo	32
Precauciones generales	32
Método de dilución Viarzoni-T y Dentaflux al 3 %	33
Método de dilución	34

Grupo control:	35
Grupo Viarzoni-T y Dentaflux al 3% Y 5.25%:	35
Disposición de desechos	36
6.8 Análisis estadístico	37
7. Resultados	38
8. Discusión	43
9. Conclusiones	44
10. Referencias bibliográficas	45
11. Anexos	50
11.1 Oficio de aceptación del asesor del proyecto de tesis	50
11.2 Oficio de aceptación del uso de la infraestructura, equipo, mobiliario y materiales del laboratorio de microbiología de la Licenciatura en Química Farmacéutica y Biológica	51
11.3 Fotografías representativas de la investigación	54

## 1. Antecedentes

### 1.1 Hipoclorito de sodio

En el año 1774 el químico sueco *Scheele* descubrió por primera vez el cloro obteniéndolo de una combinación entre dióxido de manganeso con ácido clorhídrico creyendo que se trataba de un compuesto que contenía oxígeno. Más tarde en 1777 *Claude Louis Berthollet* inventó el agua de Javel tras el estudio de sus propiedades decolorantes y sus procesos de blanqueamiento. En 1789 se introdujo por primera vez en Francia el uso del hipoclorito de sodio como antiséptico en hospitales (1, 2).

Años más tarde en 1820, el farmacéutico *Antoine Germain* Labarraque introdujo una solución de hipoclorito de sodio llamado “Liqueur de Labarraque”.

Durante la primera guerra mundial el científico *Alexis Carrel* en conjunto con el británico *Henry Dakin* crearon un antiséptico compuesto por hipoclorito sódico (0.45% al 0.5%) y ácido bórico (4%) al que llamaron la solución de Dakin- Carrel; la cual gracias a su gran actividad bactericida y que no dañaba a los tejidos se utilizó para la limpieza de las heridas, combatir la infección y ayudar en la cicatrización, sin embargo la baja estabilidad de la solución, la difícil metodología de su preparación y su gran toxicidad por concentraciones mayores a 0.25% en fibroblastos, leucocitos y células endoteliales la hizo perder vigencia. Años más tarde *Henry Dakin* creó la solución modificada de Dakin la cual contenía hipoclorito de sodio (0.025% a 0.25%) y bicarbonato de sodio o ácido bórico (5%) para la curación y desinfección de heridas en una concentración de 0.5% con un pH de 9 (2).

Finalmente, Coolidge en 1919 introdujo al hipoclorito de sodio en endodoncia como solución para la irrigación de los conductos (2).

Actualmente el hipoclorito de sodio es la solución irrigante de primera elección durante la práctica endodóntica en sus diferentes concentraciones, las cuales van del 0.5%

(solución de Dakin), 1% (solución de Milton) al 2.5% (solución de Labarraque) y últimamente los nuevos protocolos que lo utilizan al 3% y 6%, debido a su acción solvente sobre los residuos orgánicos dentro de los conductos radiculares y su acción antiséptica sobre virus y bacterias (3- 6).

## **1.2 Mecanismos de acción**

Su fórmula química es NaOCl y su mecanismo de acción es oxidar e hidrolizar las proteínas celulares, liberando cloro para formar ácido hipocloroso, confiriéndole habilidad osmótica de extraer líquidos fuera de las células, y así provocar su deshidratación (7).

Al entrar en contacto con las proteínas del tejido el hipoclorito de sodio genera nitrógeno, formaldehído y acetaldehído uniéndose a enlaces peptídicos y se desintegran las proteínas. El hidrógeno es reemplazado por cloro formando cloramina para la eficacia antimicrobiana. De esta manera el exudado purulento y el tejido necrótico se disuelven y el agente alcanza y limpia de manera eficiente las zonas infectadas (1).

### **1.2.1 Saponificación**

Su acción es la disociación de las grasas en un medio alcalino separando glicerina y ácidos grasos. El hipoclorito de sodio actúa como disolvente orgánico y mantiene la alcalinidad de la solución para reducir la tensión superficial de la solución residual (8).

### **1.2.2 Neutralización**

El hipoclorito de sodio neutraliza los aminoácidos formando agua y sal con la liberación de iones de hidroxilo para reducir el pH y tener mayor eficacia antiséptica y menor actividad solvente (1, 2).

### **1.2.3 Cloraminación**

Cuando el cloro se disuelve en agua y entra en contacto con materia orgánica, forma ácido hipocloroso, siendo este un ácido débil y oxidante que actúa como solvente y libera cloro que al ser combinado con proteínas del grupo amino forma cloraminas. Los iones de hipoclorito y el ácido hipocloroso degradan e hidrolizan aminoácidos (1, 2).

### **1.3 Propiedades de un irrigante ideal**

El irrigante debe tener la capacidad de eliminar tejido orgánico, bacterias y sus desechos así como la remoción de detritus y barro dentinario producto de la instrumentación del conducto radicular, desinfectar la dentina subyacente y sus túbulos, que no interfiera en la reparación de tejidos periapicales, no pigmentar la estructura dental, tener acción antimicrobiana prolongada, no generar toxicidad ni irritabilidad, ser económico, fácil aplicación, baja tensión superficial, acción lubricante (2, 9).

### **1.4 Propiedades del hipoclorito de sodio**

#### **1.4.1 Blanqueador**

El mecanismo óxido/reducción generado por el hipoclorito de sodio reduce las pigmentaciones intrínsecas amarillas y marrones sobre el esmalte (8).

#### **1.4.2 Disolvente de tejido orgánico**

A la manipulación de la dentina se tiende a generar una capa de corte llamada matriz orgánica; compuesta principalmente por fibras colágenas y microorganismos, su espesor varía de 0.5 a 5  $\mu\text{m}$  según el instrumento utilizado para su corte. La eliminación

del tejido orgánico se logra debido a la desmineralización y desnaturalización del colágeno generando cambios estructurales como la fragmentación de las cadenas polipeptídicas de las fibras de colágeno dejando intactos los cristales de hidroxiapatita y facilitando su eliminación (8, 10, 11).

### **1.4.3 Antimicrobiano**

El ion cloro y las fibras colágenas forman cloraminas el cual, en conjunto con un pH de 11, actúan sobre la membrana citoplasmática inhibiendo sus enzimas y generando alteraciones biosintéticas en el metabolismo celular y la degradación de los fosfolípidos. Por lo tanto, el hipoclorito de sodio produce un efecto antimicrobiano sobre virus, bacterias y hongos presentes en los conductos pulpares debido a su acción sobre sitios enzimáticos esenciales (8, 12, 13).

### **1.4.4 Lubricante**

Después de la aplicación del hipoclorito de sodio se generan cambios en la cristalinidad de la apatita primordialmente en la dentina generando recristalización, la cual permite mayor flexibilidad (8, 2).

Se reducen las fuerzas de torsión que actúan sobre los instrumentos disminuyendo el riesgo de fractura. Facilitan el acceso inicial a los conductos pequeños y cerrados, son de gran ayuda en la instrumentación de las limas en la limpieza de los conductos radiculares (5).

## **1.5 Factores que afectan las propiedades del hipoclorito de sodio**

### **1.5.1 Potencial de hidrógeno**

El hipoclorito de sodio se encuentra naturalmente con un pH alcalino. Su valor ideal se encuentra entre 9.5 y 11 dando soluciones más estables. La estabilidad dependerá de su almacenamiento, concentración, alcalinidad, temperatura, y exposición a la luz (1).

### **1.5.2 Temperatura**

Estudios demuestran que si el hipoclorito de sodio es sometido a altas temperaturas su eficacia aumenta ya que hay mayor eliminación de tejido orgánico. Según Cunningham y Joseph en el año 1993 descubrieron que si se aumenta la temperatura a 37°C la capacidad del hipoclorito aumenta y su tiempo de acción disminuye. Diferentes artículos mencionan que el aumento de temperatura del hipoclorito debe ir desde los 37°C a los 60°C (2).

### **1.5.3 Tiempo de trabajo**

El tiempo de trabajo del irrigante dentro del conducto es de aproximadamente 2 a 5 minutos antes de perder su acción, por lo cual debe ser irrigado entre lima y lima para que no pierda sus propiedades y capacidad. La cámara pulpar siempre se debe de mantener llena del irrigante, se recomienda irrigar con volúmenes de hipoclorito de sodio de 2 a 5 ml por conducto entre cada instrumento (2).

### **1.5.4 Disolución**

Para reducir el olor y el potencial de toxicidad algunos clínicos lo diluyen al 5.25%, la cual resulta ser más eficaz en tejido desvitalizado (14).

## **1.6 Accidentes durante el uso de hipoclorito de sodio en la limpieza y conformación de conductos radiculares**

La irrigación es la fase más importante de la preparación biomecánica en la endodoncia, consiste en la infiltración y aspiración de una solución líquida desinfectante al interior de los conductos radiculares, el cual contribuye a la limpieza de detritus y restos orgánicos, desinfección y conformación (15).

El hipoclorito de sodio es el agente irrigante de primera elección, las concentraciones que se han recomendado oscilan entre el 0.5% al 5.25%, siendo este último el más empleado debido a su gran potencial y disolución de tejido orgánico, pero a su vez a mayor concentración mayor citotoxicidad, aumentando el riesgo de accidentes durante la terapia endodóntica (16).

### **1.6.1 Proyección accidental del hipoclorito de sodio hacia los tejidos periapicales**

La irrigación con excesiva presión o falta de control de la longitud de trabajo es el principal causante de este accidente, generando daños a nivel tisular, provocando dolor severo, edema de tejidos blandos circundantes, equimosis, sangrado dentro del conducto, enfisema, reacciones alérgicas y posible parestesia o infección secundaria. En ocasiones puede comprometer la vida del paciente dependiendo la localización del diente, espacios aponeuróticos y relación con estructuras anatómicas (8)

Protocolo de atención de un accidente por hipoclorito:

- Informar al paciente sobre la causa severidad y gravedad de la complicación.
- Control del dolor: anestesia local, analgésicos (ibuprofeno o paracetamol).
- Lavado abundantemente del conducto radicular con solución salina.
- Compresas frías extraorales para reducir la inflamación durante las primeras 24 horas en intervalos de 15 min.

- Después de un día compresas calientes en intervalos de 15 minutos y frecuentes enjuagues bucales de solución caliente para la estimulación de la microcirculación local.
- Antibióticos. Solo en caso de alto riesgo o evidencia de infección secundaria.
- Antihistamínico (no obligatorio).
- Tranquilizar al paciente e informarle que en un corto periodo de tiempo recuperará su apariencia normal.
- Se deberán dar las indicaciones de forma verbal y escrita.
- Solicitar el asesoramiento o remitir a un servicio de cirugía maxilofacial.
- En casos más graves: remisión a urgencias al hospital.
- Posterior finalización de la endodoncia cuando los síntomas estén resueltos o disminuidos, con una solución salina estéril o clorhexidina como sustancia irrigadoras. En la mayoría de los casos no es necesaria la extracción del órgano dentario (15).

### **1.6.2 Contacto directo de hipoclorito de sodio a tejidos blandos**

La mala colocación del dique de hule genera espacios, provocando que el líquido escape y entre en contacto con la piel o la mucosa bucal, teniendo como resultado una quemadura química, dependiendo del tiempo de exposición a la solución, puede generar dolor, ardor, y enrojecimiento del área en contacto (17).

### **1.6.3 Contacto ocular**

La irrigación ocular es uno de los accidentes que ocurren con menos frecuencia y son ocasionados principalmente por la falta de uso de lentes protectores, sus principales complicaciones son severas quemaduras y ulceraciones en la córnea (17).

## **1.7 Vías de invasión bacteriana**

En condiciones normales el periápice y la pulpa se encuentran estériles, aislados por el esmalte, la dentina y el cemento que los recubre. Las principales puertas de entrada para la infección dentinopulpar son los túbulos dentinarios, exposición pulpar directa, la enfermedad periodontal y la anacoressis (3, 18, 4).

### **1.7.1 Túbulos dentinarios**

El diámetro de los túbulos dentinarios es de 1 a 4  $\mu\text{m}$ , la mayor parte de las bacterias orales son menores de 1  $\mu\text{m}$  (0,2 y 0.7  $\mu\text{m}$ ) de diámetro.

La exposición de la dentina por falta de esmalte y cemento proporciona acceso a las bacterias mediante la saliva, lesiones cariosas y biofilm. Las bacterias invaden los túbulos dentinarios con mayor rapidez en los dientes con pulpa no vital que en los dientes con pulpa vital, esto se debe a factores como dentina terciaria, esclerosis de la dentina, barrillo dentinario y depósito de fibrinógeno ya que se reduce la permeabilidad de la dentina e impiden la progresión bacteriana hacia la pulpa (19).

### **1.7.2 Exposición de la pulpa**

Es la vía de invasión bacteriana más frecuente originada primordialmente por la caries dental, saliva o biofilm acumulado en superficies expuestas, sin embargo existen otros factores como iatrogenias restauradoras y traumatismos.

La pulpa expuesta se inflama, necrosa e infecta (18, 3, 19).

### **1.7.3 Enfermedad periodontal**

Se debate que la enfermedad periodontal sea la causante de la enfermedad pulpar. La necrosis pulpar se genera como consecuencia de la enfermedad periodontal cuando

la bolsa periodontal llega hasta el foramen apical, provocando daños irreversibles en los principales vasos sanguíneos que penetran por el foramen.

Una vez necrosada la pulpa las bacterias alcanzan a llegar a los conductos radiculares a través de túbulos dentinarios expuestos, ramificaciones, agujeros apicales, conductos laterales y accesorios, conductos de bifurcación e inician un proceso infeccioso (4, 19, 18).

#### **1.7.4 Anacoresis**

Mecanismo o medio por el cual los microorganismos se desplazan a través del torrente circulatorio hasta la zona de daño tisular y colonizan el tejido dañado (pulpa dental) produciendo infección bacteriana. Se relaciona directamente con las bacteremias y la endocarditis bacteriana (19, 18).

#### **1.8 Infecciones en endodoncia**

La pulpa dental está compuesta por tejido conectivo laxo y suave, vasos sanguíneos y nervios que se localizan en los conductos radiculares. El tejido se encuentra protegido por esmalte y dentina que actúan como barrera para evitar la contaminación por microorganismos. Cuando existe un trauma por caries o enfermedad periodontal los microorganismos entran hacia la pulpa generando inflamación o necrosis pulpar derivándose así las infecciones intrarradiculares (20).

Las infecciones de los conductos radiculares son causadas por microorganismos de diferente virulencia difíciles de controlar. La cavidad oral está compuesta por patógenos de baja virulencia que se vuelven oportunistas si están expuestos a tejidos pulpares y periapicales causando infecciones (21).

### **1.8.1 Infecciones intrarradiculares**

Son microorganismos selectivos que se colonizan dentro de los conductos radiculares, se clasifican en tres grupos de infecciones (19):

- Infecciones endodónticas primarias.
- Infecciones endodónticas secundarias.
- Infecciones endodónticas recurrentes.

#### **Infecciones endodónticas primarias**

También llamada infección inicial, los microorganismos invaden y colonizan el tejido pulpar. Estos microorganismos pueden haber estado implicados desde la primera línea de invasión que es la caries dental generando así inflamación de la pulpa y posteriormente necrosis pulpar (19).

Por otra parte, las infecciones primarias se caracterizan por contener microbiota mixta con predominio de bacterias anaerobias, especies gram negativas y gram positivas constituidas por lo menos de 10 a 30 especies y de 3 a 6 especies por conducto (1).

**Tabla 1. Géneros bacterianos de infecciones intrarradiculares primarias**

Bacterias Gram negativas		Bacterias Gram positivas	
Anaerobias	Facultativas	Anaerobias	Facultativas
<b>Bacilos</b>			
<i>Dialister</i>	<i>Capnocytophaga</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Porphyromonas</i>	<i>Eikenella</i>	<i>Pseudoramibacter</i>	<i>Corynebacterium</i>
<i>Tannerella</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>Filifactor</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Prevotella</i>		<i>Eubacterium</i>	
<i>Fusobacterium</i>		<i>Mogibacterium</i>	
<i>Campylobacter</i>		<i>Propionibacterium</i>	
<i>Synergistes</i>		<i>Eggerthella</i>	
<i>Catonella</i>		<i>Olsenella</i>	
<i>Selenomonas</i>		<i>Bifidobacterium</i>	
<i>Centipeda</i>		<i>Slackia</i>	
		<i>Atopobium</i>	
		<i>Solobacterium</i>	
		<i>Lactobacillus</i>	
<b>Cocos</b>			
<i>Veillonella</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Micromonas</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Megasphaera</i>		<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>
		<i>Finegoldia</i>	<i>Granulicatella</i>
		<i>Peptoniphilus</i>	
		<i>Anaerococcus</i>	
		<i>Streptococcus</i>	
		<i>Gemella</i>	
<b>Espirilos</b>			
<i>Treponema</i>			

Fuente: Torabinejad, 2010.

## **Infecciones endodónticas secundarias**

Estos microorganismos no se encuentran presentes en la terapia endodóntica inicial. Se generan después de la primera intervención endodóntica tras la invasión al conducto radicular durante el tratamiento de conductos (biofilm, caries, cálculo dental, fugas en el dique de hule, contaminación del instrumental), entre citas (fracturas dentales, drenaje de abscesos, pérdida o micro filtración del material provisional), después de la obturación (recidiva de caries, fractura dental, retraso de la colocación de la restauración permanente, pérdida o microfiltración de la restauración permanente) (18).

Particularmente los microorganismos intraorales provienen de la saliva e ingresan al conducto radicular, por otra parte los microorganismos extra orales provienen de células muertas de la piel, del medio ambiente e incluso del intestino toda esta flora se adapta al medio, sobreviven y proliferan generando una infección endodóntica secundaria (19, 1).

## **Infecciones endodónticas recurrentes**

Principalmente las infecciones recurrentes se originan tras la resistencia de procedimientos antimicrobianos y permanencia de los microorganismos de la infección primaria y secundaria dentro del conducto radicular, siendo estos los responsables del fracaso del tratamiento endodóntico; sin embargo, también pueden aislarse hongos (18).

Suelen ser bacterias gram positivas, siendo *Enterococcus faecalis* la especie que predomina con una incidencia del 77%, seguido de *Pseudoramibacter alactolyticus* (55%) y *Propionibacterium propionicum* (50%). Se determina que los microorganismos sobreviven por años dentro de los conductos radiculares siendo capaces de soportar condiciones desfavorables como privación de nutrientes, generando inflamación peri

radicular debido a una alta cantidad de microorganismos en el tercio apical, presencia de microorganismos durante la obturación y periodontitis apical inicial (19, 1).

Por lo tanto, la presencia de bacterias antes de sellar los conductos radiculares puede conducir al desarrollo de una periodontitis periapical y dar lugar a una infección endodóntica recurrente (22).

**Tabla 2. Géneros bacterianos de infecciones intrarradiculares persistentes.**

GRUPO TAXONÓMICO	FRECUENCIA %
<i>Enterococcus faecalis</i>	77
<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i>	55
<i>Propionibacterium propionicum</i>	50
<i>Filifactor alocis</i>	48
<i>Dialister pneumosintes</i>	46
<i>Streptococcus spp</i>	23
<i>Tannerella forsythia</i>	23
<i>Dialister invisus</i>	14
<i>Campylobacter rectus</i>	14
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	14
<i>Treponema denticola</i>	14
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	10
<i>Prevotella intermedia</i>	10
<i>Campylobacter gracilis</i>	5

Fuente: M. Hargreaves, 2016.

### **1.8.2 Infecciones extrarradiculares**

Las lesiones inflamatorias de la periodontitis apical se generan como respuesta a la infección intrarradicular pretendiendo mantener dentro de un saco epitelial a los microorganismos y evitar su expansión, cuando los microorganismos acceden o penetran la barrera defensiva y acceden a los tejidos perirradiculares y se genera la infección extrarradicular (19).

Existen dos clasificaciones de las infecciones extrarradiculares, las infecciones independientes y las dependientes. Como ejemplo de la infección extrarradicular dependiente es el absceso apical agudo el cual es caracterizado por la inflamación purulenta. La infección endodóntica extrarradicular independiente se caracteriza por la ausencia de sintomatología e incluye el asentamiento de la flora bacteriana en forma de biopelícula sobre los tejidos perirradiculares (18, 4).

### **1.9 Patogenicidad y virulencia**

Los patógenos son microorganismos causantes de enfermedades infecciosas.

La patogenicidad indica la cualidad o característica de estos patógenos (microorganismo o parásito) de desarrollar daños al huésped (enfermedad), virulencia es un término cuantitativo que mide la capacidad de un microorganismo de originar una enfermedad (23).

### **1.10 Técnicas de irrigación**

La infección microbiana ubicada dentro de los conductos radiculares es el problema principal con el que se enfrentan los endodoncistas. La instrumentación mecánica no alcanza todas las paredes del conducto radicular como conductos accesorios, aletas e istmos y los residuos y biopelícula restantes no son eliminados completamente; para su limpieza completa se requiere de la combinación de sustancias irrigadoras eficaces y de la instrumentación mecánica la cual reduce significativamente la carga bacteriana (24, 25).

Cuando se realiza un tratamiento endodóntico, se deben buscar las técnicas tanto de irrigación como de instrumentación óptimas para eliminar al máximo el contenido de los conductos radiculares, regularizar las paredes y mantener la salud de los tejidos periapicales. Los desechos producidos se deben eliminar totalmente para mejorar el pronóstico del tratamiento. A través del tiempo, se han ido perfeccionando los métodos de preparación biomecánica teniendo como pilares el uso combinado de limas e irrigación química para lograr la eliminación completa de los microorganismos y sus desechos, así como el material orgánico (26).

### **1.10.1 Sistemas de agitación manual**

#### **Administración con jeringa**

Es importante una elección adecuada de la aguja de irrigación de acuerdo al tamaño y la conicidad del conducto lo cual determinará la proximidad de colocación de la aguja limitándose de 1 a 1.5 mm de la porción apical (2).

La irrigación pasiva con jeringa y aguja permitirá la colocación exacta del líquido sanitizante a utilizar, la extracción de macropartículas de material orgánico e inorgánico y el contacto directo con microorganismos localizados en zonas cercanas a la punta de la aguja. El volumen y la velocidad del flujo son proporcionales a la eficacia de limpieza del conducto radicular de acuerdo al diámetro y posición de la salida de la aguja, la cual se recomienda con extremo abierto, colocándolo cerca de la longitud de trabajo para el intercambio de líquido en la porción apical con control estricto para evitar reabsorción o posibles accidentes de extrusión del irrigante (2).

## **Irrigación activada manualmente**

En esta técnica el líquido que entra en el conducto llega a grietas y áreas intactas como conductos secundarios o accesorios por medio de movimientos coronapicales de la aguja de irrigación dentro del conducto radicular, movimientos de agitación con instrumentos endodónticos pequeños y movimientos manuales push- pull con un conducto de gutapercha principal acoplado (2).

### **1.10.2 Sistemas de agitación ayudada por máquinas**

#### **Irrigación activada sónicamente**

Se utilizan dispositivos sónicos para la agitación rápida y vigorosa de las soluciones irrigantes durante el tratamiento biomecánico de los conductos radiculares que oscilan entre 1.500 y 66.000 Hz, si los dispositivos se dejan en el conducto durante tiempos prolongados se puede obtener una mejor limpieza. La irrigación sónica o ultrasónica puede realizarse con alambres lisos o puntas de polímeros activados, instrumentos endodónticos o agujas de irrigación activadas (2).

#### **Irrigación ultrasónica**

Las limas activadas por ultrasonido son eficaces para activar los líquidos de irrigación en el interior del sistema de conductos radiculares mediante el flujo estacionario de ondas acústicas de alta amplitud y cavitación. Existen dos tipos de irrigación ultrasónica la primera es la combinada con instrumentación ultrasónica (IU), la lima se pone en contacto con la pared del conducto radicular sin embargo por la compleja anatomía nunca entrará en contacto con toda la pared y puede dar lugar a un corte incontrolado en las paredes sin desinfección eficaz. La segunda es irrigación ultrasónica pasiva (IUP) basada en la transmisión de energía acústica de una lima oscilante o un alambre liso a un irrigante del conducto radicular introduciéndose en el conducto una vez que el sistema de conductos radiculares tenga una conicidad y

tamaño apical final. Se introduce una solución irrigante nueva y se activa ultrasónicamente una lima pequeña (2).

### **1.11 Enterococcus faecalis**

Se clasifican como cocos gram positivos anaerobios facultativos, agrupados en pares, en cadenas cortas o en formas aisladas en medios líquidos (27).

Forman parte de la microbiota residente del hombre. Están asociadas principalmente a las mucosas desde la orofaringe hasta el tracto gastrointestinal y genitourinario, con múltiples especies y concentraciones (28).

#### **1.11.1 Factores de virulencia**

##### **Sustancia de agregación (AS)**

Proteína superficial que tiene como función la adhesión a los tejidos del huésped, la colonización mediante la potenciación de la conjugación de plásmidos y supervivencia al sistema inmune (29).

##### **Hemolisina**

La Citolisina es una enzima que actúa como toxina siendo los eritrocitos polimorfonucleares y macrófagos sus principales blancos provocando la ruptura de su sistema membranosos, es activa contra diferentes bacterias gram positivas por lo cual favorece la colonización de bacterias gram negativas (30).

## **Gelatinasa**

Enzima capaz de degradar la gelatina, péptidos bioactivos, caseína, hemoglobina e incluso las feromonas quimiotácticas del *Enterococcus faecalis*. Pueden tener actividades semejantes a la gelatinasa del hospedero regulando y modificando la defensa del huésped debido a su actividad degradativa y proveer de nutrientes a la bacteria (30).

## **Hialuronidasa**

Favorece la diseminación bacteriana al despolimerizar la molécula de mucopolisacárido del tejido conectivo y cumple un rol en la producción de disacáridos que pueden ser utilizados por la bacteria como nutrientes (30).

Los factores más predominantes que lo posicionan con mayor porcentaje en infecciones y morbilidad intrahospitalaria y quirúrgica son:

- Resistencia a los antimicrobianos de uso frecuente.
- Contaminación del medio hospitalario y su supervivencia por tiempos prolongados.
- Si no se sigue protocolo de lavado de manos la contaminación persiste (14).

El *Enterococcus faecalis* es la principal causa de infección intrarradicular recurrente debido a que es un microorganismo con gran capacidad de supervivencia y adaptación después de haber realizado un tratamiento endodóntico dando como resultado un tratamiento fallido (9).

## 2. Planteamiento del problema

Uno de los objetivos principales de la terapia endodóntica es lograr la desinfección completa de los conductos radiculares para que dicho tratamiento resulte exitoso (31, 6).

El hipoclorito de sodio es la solución irrigante más utilizada en tratamientos endodónticos, debido a su capacidad de limpieza antibacteriana, neutralizante de productos tóxicos, disolvente de tejido orgánico, lubricante y blanqueante (7, 9, 10). El efecto del irrigante dependerá de la cantidad de cloro libre que va de 0.5% a 6%, el cual disuelve tejido vital y necrótico rompiendo las proteínas en aminoácidos (32, 6).

En el año 1976, Sundqvist aplica técnicas avanzadas de cultivo anaerobio para evaluar bacterias que se alojan en los conductos radiculares necróticos. Este estudio representó que en más del 90% de los aislamientos hay presencia de bacterias anaerobias estrictas (18).

En la mayoría de los órganos dentarios con lesiones persistentes de periodontitis apical que han sido tratados endodónticamente hay presencia de microorganismos que han sobrevivido a los efectos de la desinfección intrarradicular teniendo al *Enterococcus faecalis* con un porcentaje del 77 % estando presente al momento o después de su obturación. En las muestras obtenidas después de la instrumentación y medicación se han encontrado bacterias gram positivas ya que son más resistentes a tratamientos antimicrobianos y tienen la capacidad de adaptarse a condiciones ambientales rigurosas, por lo que surge la siguiente pregunta de investigación (19):

**¿Cuál es la eficacia del hipoclorito de sodio sobre colonias de *Enterococcus faecalis* a diferentes concentraciones?**

### 3. Justificación

El éxito de la terapia endodóntica depende de la limpieza, desinfección y obturación que tiene por objetivo proveer un sellado completo a lo largo del conducto radicular. Primordialmente es indispensable la irrigación para obtener un buen resultado de desinfección intrarradicular (9, 21).

Se han realizado investigaciones sobre el hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones para determinar su eficacia dando como resultado que a mayor porcentaje de hipoclorito de sodio mayor eficacia (30).

La realización de esta investigación desarrollará conocimientos sobre la eficacia del hipoclorito de sodio que ayudan a la eliminación del *Enterococcus faecalis* presente en infecciones intrarradiculares recurrentes.

#### 4. Hipótesis

$H_1$ = A mayor porcentaje de Hipoclorito de Sodio menor crecimiento de colonias de *Enterococcus faecalis*.

$H_0$ = A mayor porcentaje de Hipoclorito de Sodio mayor o igual crecimiento de colonias de *Enterococcus faecalis*.

## 5. Objetivos

### 5.1 Objetivo general

Comparar cuál es la concentración más eficaz contra el *Enterococcus faecalis*.

### 5.2 Objetivos específicos

- Comparar la eficacia del hipoclorito de sodio a 3% de la marca Viarzoni-T y Dentaflux.
- Comparar la eficacia del hipoclorito de sodio a 5.25% de la marca Viarzoni-T y Dentaflux.

## 6. Materiales y métodos

### 6.1 Diseño de estudio

Estudio experimental.

### 6.2 Universo de estudio

- 18 tubos de ensayo en contenido líquido por muestra.

### 6.3 Muestreo

Muestreo no probabilístico por cuota y conveniencia.

### 6.4 Criterios de inclusión, exclusión, eliminación

#### Criterios de inclusión

- Siembra de *Enterococcus faecalis*.
- Siembra de *Enterococcus faecalis* en combinación con Hipoclorito de Sodio a 3 % de la marca Viarzoni-T.
- Siembra de *Enterococcus faecalis* en combinación con Hipoclorito de Sodio a 5.25 % de la marca Viarzoni-T.
- Siembra de *Enterococcus faecalis* en combinación con Hipoclorito de Sodio a 3% de la marca Dentaflux.
- Siembra de *Enterococcus faecalis* en combinación con Hipoclorito de Sodio a 5.25% de la marca Dentaflux.

## Criterios de eliminación

- Tubos o cajas fracturadas.
- Tubos o cajas que carezcan de crecimiento bacteriano.
- Tubos o cajas contaminadas por bacterias, virus y hongos.

## 6.5 Variables

### Variable independiente

	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Hipoclorito de sodio	Compuesto químico, oxidante de fórmula NaClO.	Recolección de hipoclorito de sodio de 2 marcas comerciales diferentes en diferentes concentraciones. Viarzoni-T (3% y 5.25%) Dentaflux (3% y 5.25%)	Cuantitativa	Continua y discreta

### Variable dependiente

	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bacteria anaerobia facultativa gram positiva	Se obtendrá la muestra de las cepas bacterianas resguardadas en el laboratorio y se realizará la siembra en medio Soya Trypticaseina.	Cuantitativo	Discreta

## **6.6 Consideraciones bioéticas**

La realización de este proyecto de investigación se llevó a cabo siguiendo las normas que rige la Declaración de Helsinki “Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos”. Norma Oficial Mexicana NOM013SSA22015; Para la prevención y control de enfermedades bucales. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011; Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. NMX-BB-040-SCFI-1999; Métodos generales de análisis-determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas. Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 residuos peligrosos biológicos infecciosos clasificación y especificaciones de manejo.

## 6.7 Procedimiento

### Selección del microorganismo de estudio

Previa autorización para realizar el estudio en el laboratorio 1 de microbiología de la Licenciatura de Química Farmacéutica Biológica de la Universidad de Ixtlahuaca, CUI (ANEXO 1).

1.- Se seleccionó para el estudio el microorganismo de infecciones intrarradiculares recurrentes con mayor incidencia a partir de estudios realizados, se consideró para el estudio que el tiempo de crecimiento del microorganismo fuera corto, se consideró al microorganismo que proporcionó el laboratorio.

2.- Para el estudio se conformaron tres grupos; I) grupo control de cultivo de *Enterococcus faecalis*, II) grupo de cultivo de *Enterococcus faecalis* con solución de Viarzoni-T al 3 % y 5.25%, III) grupo de cultivo de *Enterococcus faecalis* con solución Dentaflux al 3% y 5.25%.

## **Material suministrado por la Universidad**

Microorganismo (*Enterococcus faecalis*)

4 Litros de agua destilada

2 Litros de agua Peptonada estéril

250 g de Agar Soya Trypticaseina 3/3B36-B

250 g de Caldo neutralizante

2 Espátulas de cuchara

8 Matraz de Erlenmeyer de 250 a 500 mL

2 Probetas de 100 o 250 mL

8 Gradillas

5 Pipetas de 10 mL

2 Micropipetas de 1000  $\mu$ L

2 Micropipetas de 100  $\mu$ L

200 Puntas de Micropipeta de 1000  $\mu$ L

200 Puntas de Micropipeta de 100  $\mu$ L

200 Tubos de ensaye de 16X150

2 Asas bacteriológicas

2 Termo agitador magnético

1 Balanza granataria

1 Mechero Fisher

2 Vórtex

1 Incubadora

1 Autoclave

1 Refrigerador

1 Cuenta colonias

1 Cámara de bioseguridad

## **Materiales no suministrados por la universidad**

Papel kraft o de estraza

Maskin-tape o cinta testigo

Plumones indelebles

Solución Dentaflux al 5.25 %

Solución de Viarzoni-T al 5.25%.

Algodón

1000 Placas Petri

Alcohol al 98%

2 Agitadores magnéticos

## **Control de calidad**

- Se examinó el material para asegurarse que no contuviera algún defecto y este no interfiriera con el uso.
- Los tubos representativos vacíos se incubaron a una temperatura de 30 a 35°C; se examinaron después de siete días en busca de contaminación microbiana.

## **Procedimiento aséptico**

### Técnica de lavado de manos

- Se enjuagaron las manos con agua.
- Se aplicó suficiente jabón para cubrir las dos manos.
- Se frotaron las palmas entre sí.
- Se frotó la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa.
- Se frotaron las palmas de las manos entre sí con los dedos entrelazados.
- Se frotó el dorso de los dedos de una mano contra la palma de la mano opuesta, manteniendo unidos los dedos.
- Rodeando el pulgar izquierdo con la mano derecha, se frotó con un movimiento de rotación y viceversa.
- La punta de los dedos de la mano derecha se frotó contra la palma de la izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa.
- Se enjuagaron las manos (imagen 8.b)
- Se secaron con una toalla de un solo uso.
- Se utilizó la toalla para cerrar el grifo.

## Preparación y esterilización del material de vidrio

- 1.- Se lavó el material con detergente líquido, enjuagó con abundante agua de la llave y al final con agua destilada.
- 2.- Se secó el material de vidrio al aire libre.
- 3.- Se colocó un filtro de algodón en las boquillas de los tubos de ensayo.
- 4.- Se Identificó el material con nombre y datos.
- 5.- Se acomodó el material dentro de la autoclave previamente calentado a 180°C, se esperó a que la temperatura se estabilizará nuevamente y a partir de ese momento el tiempo de esterilización fue de 60 minutos.

## Preparación y esterilización de medios de cultivo

### Agar Soya Trypticaseina 3/3B36-B

- 1.- Se leyó cuidadosamente el marbete del medio de cultivo deshidratado (Agar Soya Trypticaseina 3/3B36-B).
- 2.- Se calculó la cantidad necesaria para preparar 2000 mL de Agar Soya Trypticaseina.

$$40 \text{ g} \text{-----} 1000 \text{ mL}$$

$$X \text{ -----} 250 \text{ mL}$$

$$x = \frac{(40 \text{ g})(250 \text{ mL})}{1000 \text{ mL}}$$

X= 10 g/250 mL de agua destilada.

Se realizó por 8 porciones.

- 3.- Se pesaron 10 g del medio deshidratado en la balanza granataria. Fue rápido para evitar que la humedad del ambiente no afectará el resto del contenido del frasco (imagen 2.a).
- 4.- El medio se disolvió en 100 mL de agua destilada en un matraz de 250 mL, y una vez disuelto se agregaron los otros 150 mL para completar el volumen (imagen 2.b).

5.- Se disolvió los mismos gramos de Agar Soya Tripticaseina en 8 matraces para que se completaran los 2000 mL, la mezcla se dejó en reposo durante 1 minuto, posteriormente se le colocó un agitador magnético en cada uno de los matraces y se llevó al el termo agitador magnético uno por uno dejando hervir durante 1 minuto (imagen 2.c).

6.- Los matraces se taparon con algodón, se etiquetaron y esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

7.- Se esperó a que la temperatura de los matraces disminuyera, se realizó el vaciado en cajas Petri dentro del gabinete de bioseguridad y se dejaron gelificar, posteriormente se rotularon y se guardaron en el refrigerador de 2 a 8°C (imagen 3).

### **Caldo neutralizante**

1.- Se leyó cuidadosamente el marbete del medio de cultivo deshidratado (Caldo neutralizante).

2.- Se calculó la cantidad necesaria para preparar 3000mL de Agar Soya Tripticaseina.

39 g-----1000 mL

X -----375 mL

$$x = \frac{(39 \text{ g})(375 \text{ mL})}{1000 \text{ mL}}$$

X= 14.625 g/375 mL de agua destilada

Se realizó por 6 porciones.

3.- Se pesaron 14.625 g del medio deshidratado en la balanza granataria. Fue rápido para evitar que la humedad del ambiente no afectará el resto del contenido del frasco (imagen 2.a).

4.- El medio se disolvió en 250 mL de agua destilada en un matraz de 500 mL, y una vez disuelto se agregaron los otros 250 mL para completar el volumen (imagen 2.b).

5.-Se disolvió los mismos gramos de Caldo neutralizante en 6 matraces para que se completaran los 3000 mL, la mezcla se dejó en reposo durante 1 minuto, posteriormente se le colocó un agitador magnético en cada uno de los matraces y se llevó al el termo agitador magnético uno por uno dejando hervir durante 1 minuto (imagen 2.c).

6.- Los matraces se taparon con algodón, se etiquetaron y esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

7.- Se esperó a que la temperatura de los matraces disminuyera.

8.- Se realizó el vaciado de 9 mL en 90 tubos de ensayo de 16 x 150 mL con ayuda de una pipeta de 10 mL se les colocó la tapa de rosquilla, posteriormente se rotularon y colocaron en las gradillas (imagen 2.d).

9.- Las gradillas se llevaron a resguardo a temperatura ambiente.

### **Siembra o inoculación para el cultivo**

1.- Se inoculó el *Enterococcus faecalis* en un medio de Agar gelosa sangre (imagen 4).

2.- Se identificó y etiquetó con plumón indeleble acompañado de los siguientes datos:  
Nombre del Agar o Caldo.

Fecha.

Nombre del alumno.

Nombre de la Muestra.

3.- Se incubó a 37.5° C durante 24 a 48 horas.

### **Precauciones generales**

Al etiquetar el material, tener cuidado de que las anotaciones sean correctas.

### Método de dilución Viarzoni-T y Dentaflux al 3 %

Las soluciones antimicrobianas (Viarzoni-T y Dentaflux) al 3% se prepararon el mismo día que se emplearon y la temperatura fue a la correspondiente en el medio en el que se encontraba dentro del laboratorio ya que se tomó el antimicrobiano (hipoclorito de sodio) directamente del envase respectivo de cada muestra (imagen 1).

1.- Se calculó la cantidad necesaria para preparar 9 mL Viarzoni-T al 3%.

9 mL-----5.25% Viarzoni-T

X -----3% Viarzoni-T

$$x = \frac{(9 \text{ mL})(3\%)}{5.25\%}$$

X= 5.1 mL/3.9 mL de agua destilada estéril.

2.- Se realizó el vaciado de 5.1 mL de Viarzoni-T con ayuda de una pipeta de 10 mL en 2 tubos de ensayo de 16 x 150 mL con 3.9 mL de agua destilada estéril cada uno, se les colocó la tapa de rosquilla, posteriormente se rotularon y se agitaron en el Vórtex durante 1 minuto, al término se colocó uno en la gradilla a utilizar, dejando el otro tubo de reserva en otra.

3.- Se calculó la cantidad necesaria para preparar 9 mL Dentaflux al 3%.

9 mL-----5.25% Dentaflux

X -----3% Dentaflux

$$x = \frac{(9 \text{ mL})(3\%)}{5.25\%}$$

X= 5.1 mL/3.9 mL de agua destilada estéril.

4.- Se realizó el vaciado de 5.1 mL de Dentaflux con ayuda de una pipeta de 10 mL en 2 tubos de ensayo de 16 x 150 mL con 3.9 mL de agua destilada estéril cada uno, se les colocó la tapa de rosquilla, posteriormente se rotularon y se agitaron en el Vórtex durante 1 minuto, al término se colocó uno en la gradilla a utilizar, dejando el otro tubo de reserva en otra.

## **Método de dilución**

1.- Se realizó el vaciado de 9 mL de agua Peptonada estéril en 11 tubos de ensayo de 16 x 150 mL con ayuda de una pipeta de 10 mL se les colocó la tapa de rosquilla, posteriormente se rotularon.

2.- Una vez obtenido el crecimiento del *Enterococcus faecalis* se tomó una colonia aislada con ayuda del asa que previamente fue pasado por la llama del mechero y se transfirió a un tubo de ensayo con 10 mL de agua destilada estéril la cual fue la solución madre y se agitó en el Vórtex durante 1 minuto; se empleó para los tres grupos.

3.- Se emplearon 5 gradillas, en la primera perteneciente al grupo control se colocaron primero 3 tubos de agua Peptonada estéril en la primera fila y en la segunda, tercera y cuarta 6 tubos de caldo neutralizante en cada fila.

4.- En la segunda gradilla perteneciente al grupo Viarzoni-T al 3% se colocaron 2 tubos de agua Peptonada estéril en la primera fila y en la segunda, tercera y cuarta fila 1 tubo de 9 mL de Viarzoni-T al 3% y 6 tubos de caldo neutralizante.

5.- En la tercera gradilla perteneciente al grupo Viarzoni-T al 5.25% se colocaron 2 tubos de agua Peptonada estéril en la primera fila y en la segunda, tercera y cuarta fila 1 tubo de 9 mL de Viarzoni-T al 5.25% y 6 tubos de caldo neutralizante.

6.- En la cuarta gradilla perteneciente al grupo Dentaflux al 3% se colocaron 2 tubos de agua Peptonada estéril en la primera fila y en la segunda, tercera y cuarta fila 1 tubo de 9 mL de Dentaflux al 3% y 6 tubos de caldo neutralizante.

7.- En la quinta gradilla perteneciente al grupo Dentaflux al 5.25% se colocaron 2 tubos de agua Peptonada estéril en la primera fila y en la segunda, tercera y cuarta fila 1 tubo de 9 mL de Dentaflux al 5.25% y 6 tubos de caldo neutralizante.

**Grupo control:**

- 1.- Se retiró la rosca del tubo de la solución madre y se pasó la boquilla por la flama azul del mechero, se tomó 1 mL con ayuda de la micropipeta y su punta de 1000  $\mu$ L y se mezcló en el primer tubo con 9 mL de agua Peptonada estéril y se colocó en el Vórtex durante 1 minuto; se cambió la punta de la micropipeta y se tomó 1 mL del primer tubo al segundo tubo de agua Peptonada llevándolo nuevamente al Vórtex durante 1 minuto (imagen 5).
- 2.- Del segundo tubo se tomó 1 mL con ayuda de la micropipeta llevándolo al tercer tubo con 9 mL de caldo neutralizante y se colocó en el Vórtex durante 1 minuto.
- 3.- Se diluyeron sucesivamente los tubos de caldo neutralizante restantes cambiando las puntas y llevando cada uno al Vórtex durante 1 minuto.
- 4.- Este procedimiento se aplicó únicamente para el grupo control.

**Grupo Viarzoni-T y Dentaflux al 3% Y 5.25%:**

- 1.- Se retiró la rosca del tubo de la solución madre y se pasó la boquilla por la flama azul del mechero, se tomó 1 mL con ayuda de la micropipeta y su punta de 1000  $\mu$ L y se mezcló en el primer tubo con 9 mL de agua Peptonada estéril y se colocó en el Vórtex durante 1 minuto; se cambió la punta de la micropipeta y se tomó 1 mL del primer tubo al segundo tubo de agua Peptonada llevándolo nuevamente al Vórtex durante 1 minuto.
- 2.- Del segundo tubo se tomó 1 mL con ayuda de la micropipeta llevándolo al tercer tubo con 9 mL de sanitizante (VIARZONI-T, DENTAFLUX) al 3% y 5.25%, se colocó en el Vórtex durante 1 minuto y se dejó reposar durante 60 segundos.
- 3.- Se tomó 1 mL del tercer tubo y se fueron diluyendo sucesivamente los tubos de caldo neutralizante restantes cambiando las puntas y llevando cada uno al Vórtex durante 1 minuto.

Grupo I cultivo de *Enterococcus faecalis*

Grupo II cultivo de *Enterococcus faecalis* con solución de Viarzoni-T al 3% y 5.25%.

Grupo III cultivo de *Enterococcus faecalis* con solución Dentaflux al 3% y 5.25%.

- 4.- Se pasó la boquilla por la flama azul del mechero, se extrajo 100  $\mu$ L con ayuda de la micropipeta y su punta de cada tubo partiendo del tubo 4 al 9 de los tres grupos y se sembró con la técnica de estría en cajas Petri de Agar Soya Tripticaseina (imagen 6).
- 5.- La siembra se realizó por triplicados previamente rotulados, dejando incubar durante 24 horas a 37.5 ° C (imagen 7).
- 6.- Posteriormente pasando las 24 horas se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias con ayuda del cuenta colonias (imagen 8).

### **Disposición de desechos**

- 1.- Los caldos fueron esterilizados en autoclave antes de ser desechados y los cultivos se sellaron y desecharon directamente al contenedor de RPBI.
- 2.- Después el material que se utilizó se sumergió en una solución sanitizante durante 10 minutos, se lavó con detergente, enjuagó, y conservó en un frasco con alcohol al 95%.
- 3.- En el caso de ruptura de las preparaciones, los fragmentos se envolvieron con papel, se esterilizó el paquete en autoclave y después fueron desechados en el contenedor de vidrio roto (imagen 9).

## **6.8 Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó mediante el software Microsoft Office Excel 2013, donde se realizó estadística descriptiva.

## 7. Resultados

Los resultados obtenidos para la determinación del efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, tanto aplicado a una concentración del 3% y 5.25% de las marcas Viarzoni-t y Dentaflux así como a un grupo control, se presenta el siguiente análisis descriptivo usando el paquete Excel junto a la elaboración de tablas y gráficos que permiten una interpretación adecuada de los resultados.

En cuanto al número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en el grupo control, indica un mayor crecimiento de la cepa de *Enterococcus faecalis* en la caja Petri número 1, mientras que comienza a ascender de manera gradual hasta llegar a 0.

En cuanto al número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en el grupo Viarzoni-T, el mayor crecimiento de la cepa de *Enterococcus faecalis* se observa en la caja Petri 1 de ambos porcentajes; sin embargo, en las cajas Petri 2 y 3 la diferencia entre ambas muestra una mayor disminución de UFC en el 5.25%, quedando así en 0 las cajas 4, 5, 6.

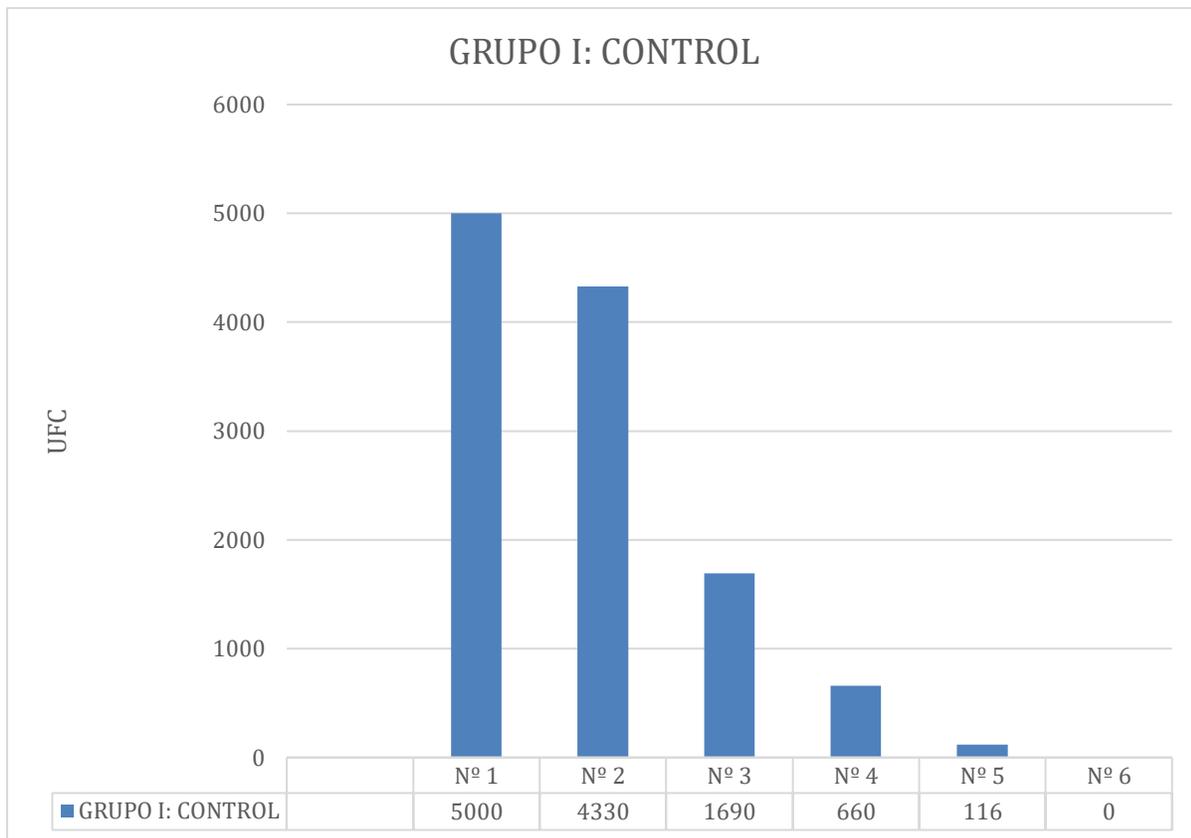
En cuanto al número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en el grupo Dentaflux en ambos porcentajes indica un crecimiento nulo de la cepa de *Enterococcus faecalis* en las cajas Petri 1, 2, 3, 4, 5 y 6 en donde no se observó crecimiento de la cepa en ninguno de los porcentajes.

**Tabla 3. Evaluación del efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio sobre colonias de Enterococcus faecalis.**

Cepa de estudio		Enterococcus faecalis		
Sustancia	Variable de marca	Variable de porcentaje	Nº Caja Petri	UFC/por placa
Hipoclorito de Sodio	Viarzoni-t	3%	Nº 1	incontable
			Nº 2	1370
			Nº 3	146
			Nº 4 -Nº 6	0
		5.25%	Nº 1	incontable
			Nº 2	1206
			Nº 3	100
			Nº 4- Nº 6	0
	Dentaflux	3%	Nº 1- Nº 6	0
		5.25%	Nº 1- Nº 6	0
Grupo Control			Nº 1	incontable
			Nº 2	4330
			Nº 3	1690
			Nº 4	660
			Nº 5	116
			Nº 6	0

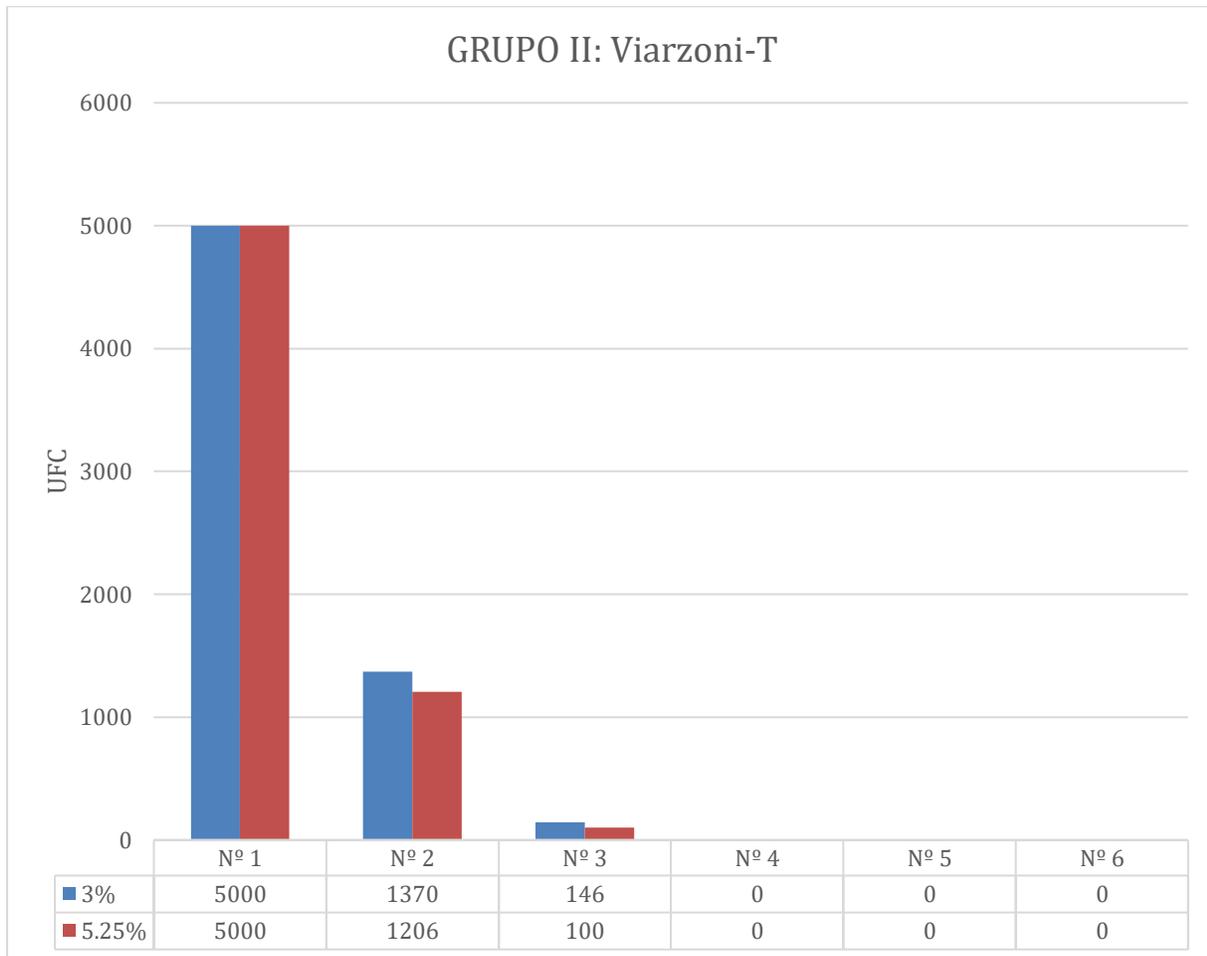
Fuente: Propia para el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC).

**Gráfica 1. Número de UFC en muestra de Enterococcus faecalis.**



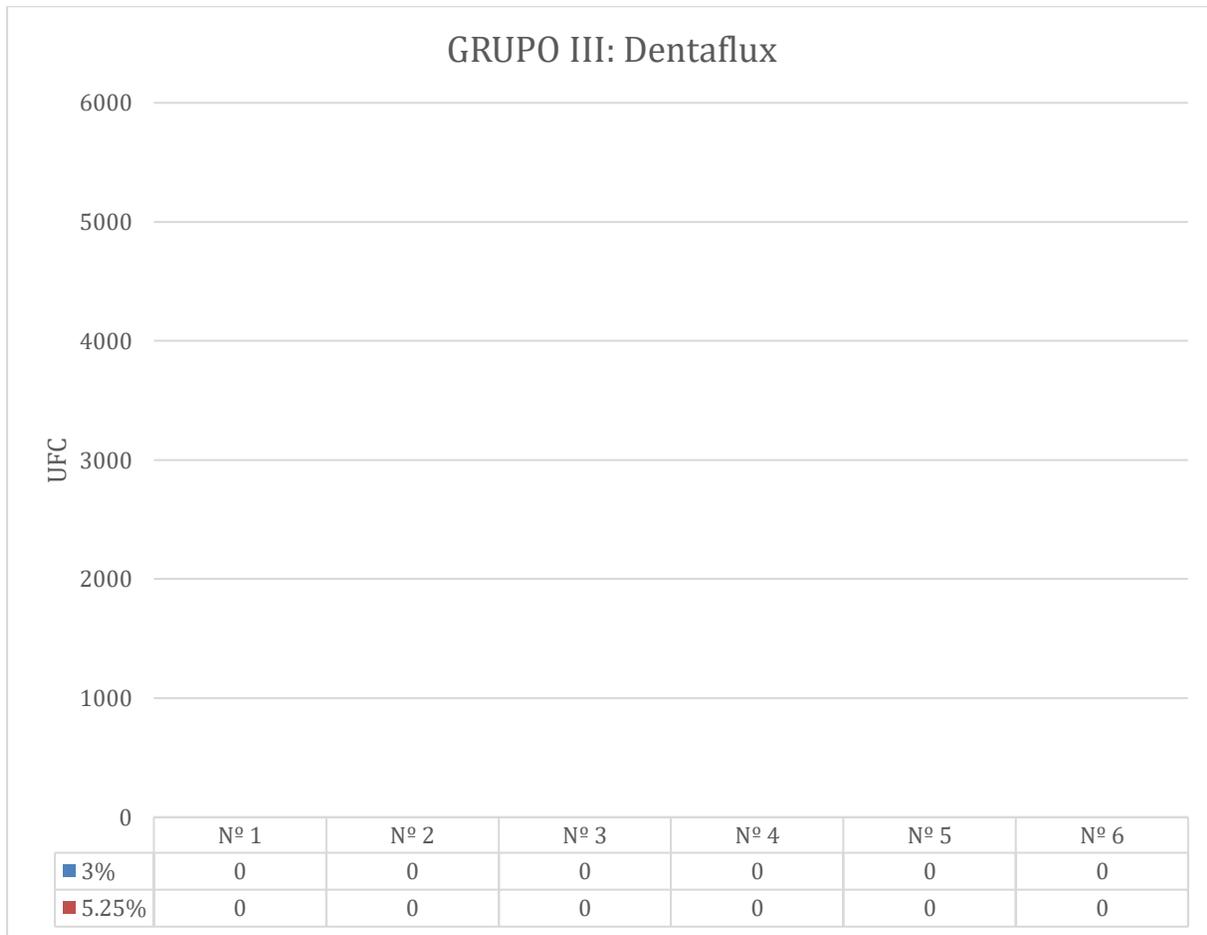
Fuente: Propia para el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC).

**Gráfica 2. Número de UFC por porcentaje en muestra de Viarzoni-T más *Enterococcus faecalis*.**



Fuente: Propia para el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC).

**Gráfica 3. Número de UFC por porcentaje en muestra de Dentaflux más Enterococcus faecalis.**



Fuente: Propia para el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC).

## 8. Discusión

La zona pulpar no se limpia y prepara únicamente con la instrumentación; aunque con los instrumentos manuales se realiza parte de la debridación, estos por sí solos no son capaces de la eliminación completa de todos los residuos pulpares, motivo por lo cual los irrigantes son auxiliares importantes que facilitan la limpieza endodóntica.

Hay varios estudios que resaltan la eficacia del hipoclorito de sodio (2.5% a 6%) Díaz Caballero, realizó un estudio utilizando tres grupos, por lo tanto usando las siguientes sustancias irrigantes: hipoclorito de sodio al 5%, clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio 2.5% con irrigación final de MTDA la investigación demostró que todas las sustancias fueron efectivas en la eliminación de *Enterococcus faecalis*, los resultados de este estudio determinan la eficacia del hipoclorito de sodio (3% y 5.25%) como control bacteriano, no importando la marca comercial ni el porcentaje pues se demostró la sensibilidad de la bacteria al contacto con el hipoclorito de sodio.

Por su parte Montealegre Pérez, argumentó en su estudio de investigación que la utilización del hipoclorito de sodio en concentraciones mayores al 6% conservando el contenido en frascos de color ámbar aumentaban la eficacia en la remoción completa del tejido pulpar, es importante recordar que el NaOCl, es un agente citotóxico para las células, es una solución irritante cuya acción no solo se limita al tejido necrótico solamente por lo cual el uso en altas concentraciones aumenta el riesgo de irritación y daños irreversibles, lo cual se ha comprobado que nos es necesario porque en una concentración del 3% se demostró la efectividad y sensibilidad ante *Enterococcus faecalis*. (12, 18).

## 9. Conclusiones

- Se verificó una alta sensibilidad de las cepas bacterianas de *Enterococcus faecalis* al entrar en contacto con el hipoclorito de sodio al 3% y 5.25% de concentración de la marca Dentaflux.
- La exposición del hipoclorito de sodio al 3% y 5.25% de concentración de la marca Dentaflux a 60 segundos desestabilizó sus propiedades químicas dando como resultado una baja acción bactericida de colonias de *Enterococcus faecalis*.
- Se comprobó que la concentración de hipoclorito de sodio de la marca Dentaflux empleada al 3% tiene el mismo efecto que el 5.25%.
- El hipoclorito de sodio al 3% y 5.25% de concentración de la marca Viarzoni-t tiene una baja sensibilidad sobre las cepas bacterianas de *Enterococcus faecalis*.
- Se demostró que la eficacia del hipoclorito de sodio sobre colonias de *Enterococcus faecalis* varía de acuerdo a la marca comercial.

## 10. Referencias bibliográficas

1. Silvia C, Paulis D, Adriana N, Núñez G, Juan P, Predari SC, et al. Desulfuricans en 2 casos de bacteriemias insidiosas. 2017;
2. Galarraga V. Universidad Central Del Ecuador. Univ. Cent Del Ecuador. 2017; 105.
3. Rojas CND. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Medicina (B Aires). 2010; 447(Mayo):1–33.
4. ML Marín Botero, B Gómez, AD Cano Orozco, SCruz López, DA Castañeda Peláez ECC. Hipoclorito de sodio como irrigante de conductos. Caso clínico, y revisión de literatura. SCielo. 2019; 35.
5. Covo Morales EE, Ruíz Llorente AM, Simancas Pallares MÁ. Penetración del hipoclorito de sodio al comparar cuatro sistemas rotatorios de preparación en conductos mesiovestibulares de molares inferiores / Sodium Hypochlorite Penetration while comparing four Rotatory Preparation Systems in Lower-Molar Mesiobuccal. Univ. Odontológica. 2016; 34(73).
6. V SE. Medio del uso de hipoclorito de sodio, clorhexidina y MTAD en conductos radiculares. : 263–70.
7. López Arias LF, Patiño PV, Prado RS, Biedma BM, Bahillo JDG, Pena KR. Identificación de microorganismos por reacción en cadena de la polimerasa en necrosis pulpar y periodontitis apical. Rev. Cubana Estomatología. 2017; 54(3):1–12.
8. Botia KG, Maldonado IEQ, Mercado ILF. Accidente con hipoclorito de sodio durante la terapia endodóntica. Rev. Cubana Estomatológica. 2018; 55(2):1–7.

9. Josef Siqueira JINR. Microbiología de las infecciones endodónticas. Elsevier. 2016; 10(Microbiología de las infecciones endodónticas):599–629.
10. Lugo De Langhe CD, Rocha MT, Finten SB. Actualización sobre irrigantes y nuevas técnicas de irrigación utilizados para la eliminación del smear layer o barro dentinario. Rev. Facultad Odontológica Univ Nac (Córdoba). 2013; 6(2):62.
11. González LMO. Enterococos: actualización. Rev. Habanera Ciencias Médicas. 2010; 9(4):507–15.
12. Cirujanos C De, Costa D De, Rica C, María J, Fisicoquímicas P, Tejido YDDE, et al. Propiedades Fisicoquímicas Y Disolución De Tejido Pulpar Del Hipoclorito De Sodio Utilizado Como Irrigante Endodóntico En Tres Centros De Atención Odontológica De La Caja Costarricense Del Seguro Social. Rev. Científica Odontológica. 2014; 10(1):43–51.
13. Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. Braz Dent J. 2002; 13(2):113–7.
14. F.MacFaddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Vol. 3° edición, médica panamericana. 2003. 487 p.
15. Gómez-palma A, Betancourt-González LP. Infiltración accidental de hipoclorito de sodio en tejidos periapicales al realizar tratamientos de conductos. 2018;(40):45–9.
16. Marín Botero M, Gómez B, Cano Orozco A, Cruz López S, Castañeda Peláez D, Castillo E. Hipoclorito de sodio como irrigante de conductos. Caso clínico, y revisión de literatura. Av. Odontoestomatol. 2019; 35(1):33–43.

17. Rica UDC, Castillo N, José M, Guzmán M, Pablo J, Rica UDC, et al. Accidente por Hipoclorito de Sodio en Endodoncia Protocolo de Atención. *Odontos - Int J Dent Sci.* 2005;(7):5–7.
18. Saucedo AH, Antonio M, Guerra C, Javier F, Padilla V, Haydeé D, et al. Comparación de la eficacia de los irrigantes OxOral ® Comparison of OxOral ® and NaOCl irrigants efficiency in *Enterococcus faecalis* elimination. 2017; 21:241–4.
19. Haydeé F, Ruiz S, Taketoshi A, Meguro F, Padilla SA. Comparación de la acción bactericida del hipoclorito de sodio y Microcyn 60. *Rev Odontol Mex.* 2010; 13(1):9–16.
20. Rodríguez DDS S, Ramirez DDS, MSc T, Montero DDS, MSc M, Chaparúa DDS, MSc, PhD D, Valle PhD G, Rojas MSc N. Antibacterial Efficacy of a Dispersion of Silver Nanoparticles in Citrate Medium for the Treatment of *E. faecalis*: an In Vitro Study. *Odovtos - Int J Dent Sci.* 2016; 18(2):99.
21. Ove A .Peters, Cristine I.Petres BB. Limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares. Vol. 10, Elsevier. 2017. 209–261 p.
22. Josef. Siqueira JR. Microbiología endodoncica. Vol. 4° EDICIÓN, ELSEVIER SAUDERS. 2010. 38–48 p.
23. Jorge Tay, Manuel Gutiérrez, Rubén López JM MEM. Microbiología y parasitología médicas de Tay. Vol. 4° edición, Méndez editores. 2012. 91–92.
24. Guerrero Verdelli D, Zambrano Matamoros G. Estudio comparativo de dos soluciones irrigadoras activadas y no activadas para la preparación química del conducto radicular visto al MEB. *Dominio las Ciencias.* 2017; 3(2):450–62.

25. Beltrán A, Giselle S, Pachón C, Marcela A, Ángel L, Eduardo L. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231220952003>. 2005;
26. Beatriz LA. REMOCIÓN DEL BARRO DENTINARIO AL UTILIZAR ÁCIDO MALEICO Y. 2018; 14(1).
27. Silva-León G, Velásquez-Huamán Z de los Á, Maúrtua-Torres DJ. Evaluación “in vitro” de la resistencia a la penetración bacteriana usando dos técnicas de obturación y dos selladores endodónticos frente a una cepa de *Enterococcus faecalis*. *Rev. Estomatológica Hered*. 2015; 25(1):18.
28. SUGITA JCBLKBYEI. Microbiología de la endodoncia y asepsia en la práctica endodóntica. Mc Graw Hill. 7AD; 5:63–89.
29. Garza-Velasco R, Hernández-Acosta K, Mejía-Chávez AG. Los factores de virulencia y la actual importancia clínica de *Enterococcus faecalis*. 2005; 14. Available from: <http://depa.fquim.unam.mx/bacteriologia/pdfs/ART%20CDC-Enterococcus.pdf>
30. Medina A, Martin C, Villalobos M, Arroyo D, Pérez A, Steffen S. *Enterococcus faecalis* en dientes con periodontitis apical asintomática. *Arch Médico Camagüey*. 2014; 18(4):415–23.
31. Herrera Saucedo A, Corona Guerra MA, Vara Padilla FJ, Gutiérrez Valdez DH, Alavez Rebollo SL. Comparación de la eficacia de los irrigantes OxOral® y NaOCl en la eliminación de *Enterococcus faecalis*. *Rev Odontológica Mex*. 2017; 21(4):241–4.
32. Berenice R, Norberto J, Claudia A, Andaracua G. Accuracy of Root ZX mini and Raypex 6 in locating the apical foramen of molars: radiographic and

microscopic evaluation. RSBO Rev Sul-Brasileira Odontol. 2015; 12(3):239–46.

## 11. Anexos

### 11.1 Oficio de aceptación del asesor del proyecto de tesis

IXTLAHUACA, MÉXICO A 24 DE ENERO DE 2019  
ASUNTO: SOLICITUD DE AUTORIZACION DE ASESOR DE TESIS

**E. EN E. NANCY AIDE HERNANDEZ VALDEZ**  
**DOCENTE DE LA LICENCIATURA DE CIRUJANO DENTISTA**  
**UNIVERSIDAD DE XTLAHUACA CUI**

#### PRESENTE

POR MEDIO DE LA PRESENTE ME DIRIJO A USTED DE LA MANERA MAS ATENTA PARA SOLICITAR QUE SEA ASESOR (A) PARA EL PROYECTO DE TESIS QUE REALIZARÁN LAS P.C.D DIANA GERVACIO LÓPEZ Y MARGARITA LUCIANO CAYETANO DE LA LICENCIATURA DE CIRUJANO DENTISTA DE LA **UNIVERSIDAD DE IXTLAHUACA CUI, A.C**

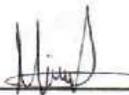
**NOS PERMITOS SOLICITAR SU APOYO IMPORTANTE PARA LA REALIZACION DE ESTE PROYECTO PARA MEJORA Y ENRIQUECIMIENTO DE LA TESIS, QUEDO EN ESPERA DE COMENTARIOS Y CORRECCIONES, ASI MISMO, EMITA UN OFICIO DE REVISION Y APROBACIÓN.**

EN ESPERA DE SU AUTORIZACIÓN, SIN MAS POR EL MOMENTO LE AGRADEZCO A USTED EL APOYO BRINDADO.

ATENTAMENTE



27/Enero/19



---

P.C.D. DIANA GERVACIO LOPEZ  
P.C.D. MARGARITA LUCIANO CAYETANO

## 11.2 Oficio de aceptación del uso de la infraestructura, equipo, mobiliario y materiales del laboratorio de microbiología de la Licenciatura en Química Farmacéutica y Biológica



UNIVERSIDAD DE IXTLAHUACA  
C.U.I  
LICENCIATURA DE CIRUJANO DENTISTA

Ixtlahuaca, Edo de Méx. A 6 de Septiembre de 2019  
Asunto: solicitud

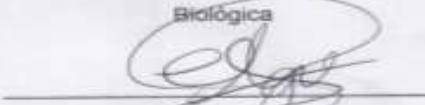
Dr. en C. Biom. Daniel Leocadio Victoria  
Director de la licenciatura en Química Farmacéutica Biológica  
UNIVERSIDAD DE IXTLAHUACA C.U.I  
PRESENTE

Por medio del presente le reiteramos un cordial saludo y a su vez nos permitimos hacerle la petición de su autorización para uso de la infraestructura, equipo, mobiliario y materiales de laboratorio de Microbiología de la Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica ubicado en el edificio "Q", con el fin de desarrollar la parte experimental de la tesis de las pasantes de C.D. Diana Gervacio López, Margarita Luciano Cayetano que lleva por nombre "Eficacia del Hipoclorito De Sodio sobre colonias de Enterococcus faecalis a diferentes concentraciones" como asesor de tesis la E EN E. Nancy Aidé Hernández Valdés, apoyo en desarrollo experimental la Q.F.B. Angélica Lizbeth Orta Gil y como responsable de laboratorio de Microbiología la Q.B.P. Olga Mateos Salazar.

En la siguiente hoja se anexara la lista de material a usar en el laboratorio. El trabajo habrá de realizarse en los horarios y días en que se autoricen.

En espera de su autorización, sin más por el momento le agradecemos su apoyo brindado.

ATTE

 <p>P.C.D. Diana Gervacio López P.C.D. Margarita Luciano Cayetano</p>	 <p>Dr. en C. Biom. Daniel Leocadio Victoria Dr. De la Lic. Química Farmacéutica Biológica</p>
 <p>M.en C. Elizabeth Sánchez Gutiérrez Dr. De la Lic. Cirujano Dentista</p>	 <p>Q.B.P. Olga Mateos Salazar Responsable de laboratorio</p>
 <p>E en E. Nancy Aidé Hernández Valdés Asesora</p>	 <p>Q.F.B Angélica Lizbeth Orta Gil Apoyo en el Desarrollo Experimental</p>

**Material suministrado por la Universidad**

Microorganismo (*Enterococcus faecalis*)

4 Litros de agua destilada

2 Litros de agua Peptonada estéril

250 g de Agar Soya Trypticaseina 3/3B36-B

250 g de Caldo neutralizante

2 Espátulas de cuchara

8 Matraz de Erlenmeyer de 250 a 500 mL

2 Probetas de 100 o 250 mL

8 Gradillas

5 Pipetas de 10 mL

2 Micropipetas de 1000  $\mu$ L

2 Micropipetas de 100  $\mu$ L

200 Puntas de Micropipeta de 1000  $\mu$ L

200 Puntas de Micropipeta de 100  $\mu$ L

200 Tubos de ensaye de 16X150

2 Asas bacteriológicas

2 Termo agitador magnético

1 Balanza granataria

1 Mechero Fisher

2 Vórtex

1 Incubadora

1 Autoclave

1 Refrigerador

1 Cuenta colonias

1 Cámara de bioseguridad

**Materiales no suministrados por la universidad**

Papel kraft o de estraza

Maskin-tape o cinta testigo

Plumones indelebles

Solución Dentaflux al 5.25 %

Solución de Viarzoni-T al 5.25%.

Algodón

1000 Placas Petri

Alcohol al 98%

2 Agitadores magnéticos

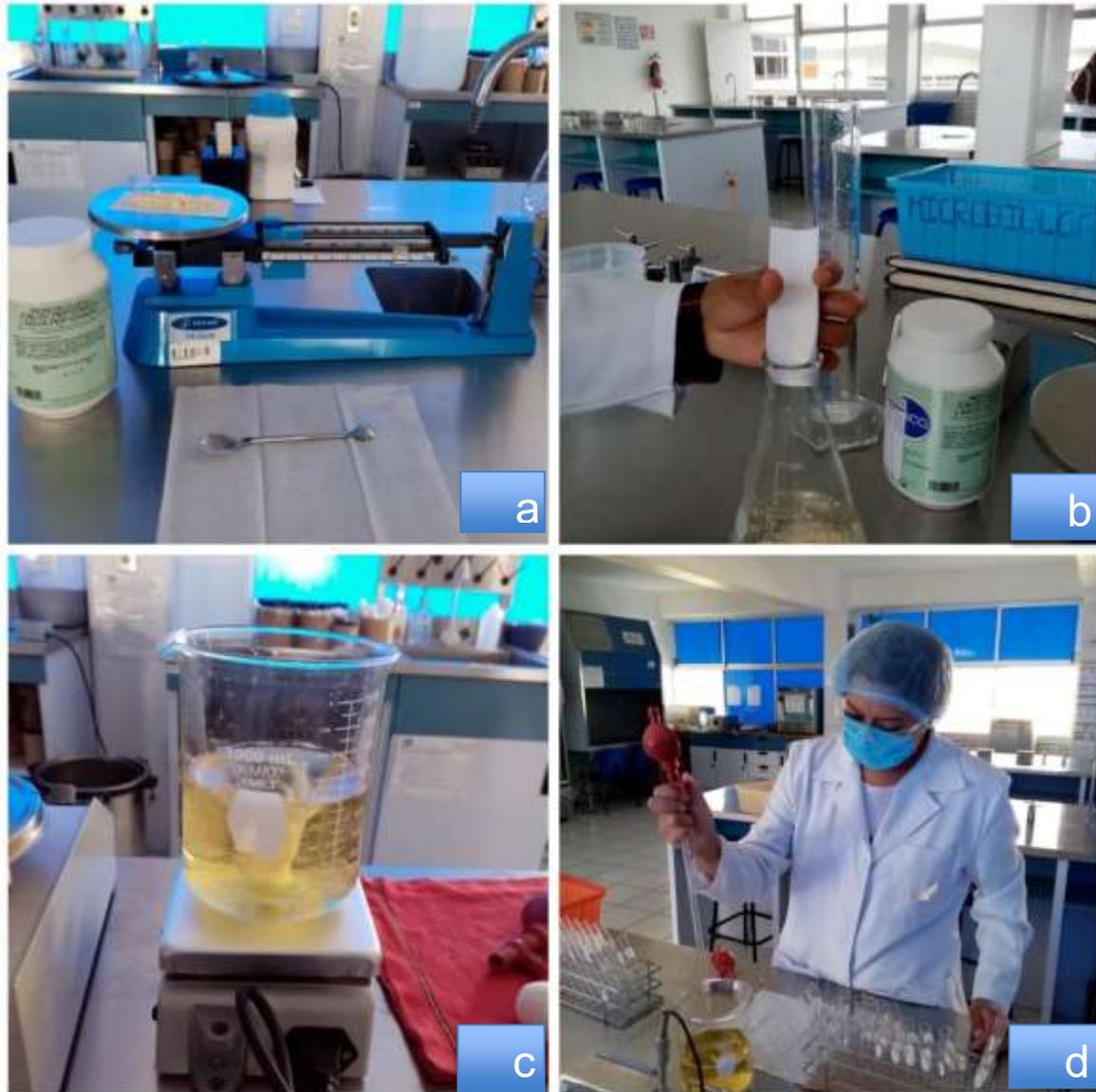
### 11.3 Fotografías representativas de la investigación

Imagen 1. Presentación de los sanitizantes



A) Solución sanitizante Viarzoni-T al 5%, B) Solución sanitizante Dentaflux al 5.25%. Fuente: Propia.

## Imagen 2. Preparación y esterilización de medios de cultivo



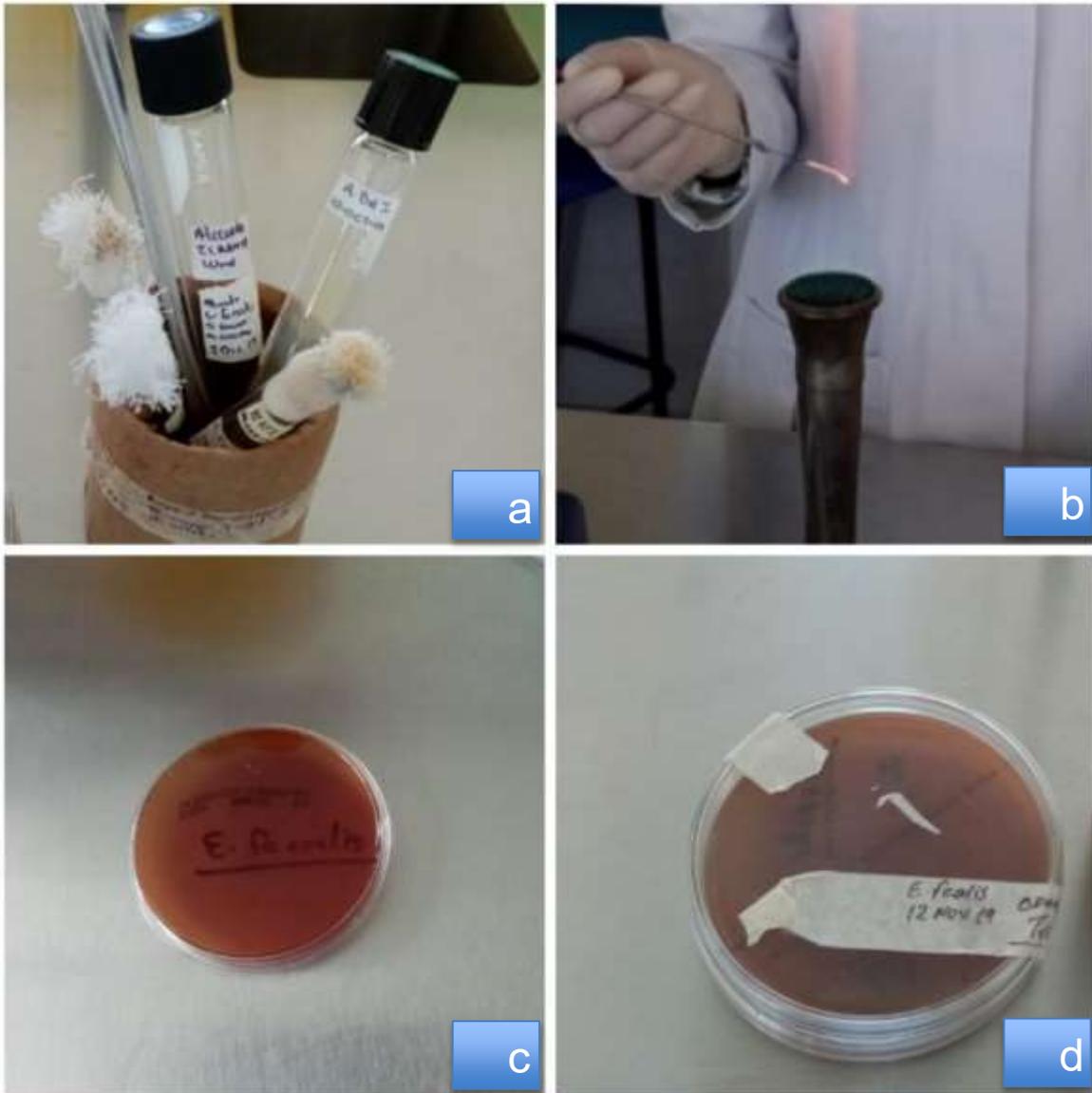
A) Medio deshidratado en la balanza granataria, B) Vaciado del medio deshidratado en agua destilada, C) Matraz sobre el termo agitador magnético disolviendo el medio, D) Pipeta sustrayendo el medio hacia los tubos de ensayo. Fuente: Propia.

**Imagen 3. Esterilización y preparación de Agar Soya Trypticaseina.**



A) Agar Soya Trypticaseina dentro del autoclave, B) Vaciado del medio de cultivo en cajas Petri para su gelificación, C) Pilas de cajas Petri gelificadas. Fuente: Propia.

**Imagen 4. Inoculación de *Enterococcus faecalis***



A) Tubos con *Enterococcus faecalis*, B) El asa siendo esterilizada, C) Se realiza la siembra de *Enterococcus faecalis* en Agar Sangre, D) Caja Petri rotulada. Fuente: Propia.

## Imagen 5. Método de dilución



A) Toma de punta estéril con la micropipeta de 1000  $\mu\text{L}$ , B) Pipeteo de la solución madre, C) Se le coloca la tapa de rosca y se desenrosca el siguiente tubo, D) La solución contenida en la micropipeta se vierte en el tubo dos, E) El tubo se coloca en el Vórtex. , F) La punta utilizada se desecha. Fuente: Propia.

**Imagen 6. Siembra de las diluciones en Agar Soya Trypticaseína**



A) Cajas Petri rotuladas, B) Extracción de 100  $\mu\text{L}$  de las diluciones, C) Goteo de las diluciones sobre las cajas Petri, D) Asa esterilizada por la flama azul del mechero, E) Siembra por estría, F) Cajas Petri inoculadas. Fuente: Propia.

**Imagen 7. Incubación de la siembra de *Enterococcus faecalis* en Agar Soya Trypticaseína**



A) Cajas Petri en pilas después de haber sido sembradas, B) Cajas Petri inoculadas en la incubadora durante 24 horas. Fuente: Propia.

## Imagen 8. Conteo de unidades formadoras de colonia (UFC)



A) Limpieza del área de trabajo, B) Lavado de manos, C) Cuenta colonias desinfectado y conectado, D) Conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), E) Cajas Petri contabilizadas. Fuente: Propia.

### Imagen 9. Eliminación de desechos



A) Contenedor de RPBI, B) Eliminación de cajas Petri con cultivos dentro de bolsas rojas. Fuente: Propia.