



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**  
**DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**ESPECIALIZACIÓN EN ENDOPERIODONTOLOGÍA**



**“COMPARACIÓN DE LA EFECTIVIDAD BACETERICIDA DE TRES  
SUSTANCIAS: HIPOCLORITO DE SODIO, CLORHEXIDINA Y TEBODONT  
(MELALEUCA ALTERNIFOLIA) CONTRA MICROORGANISMOS  
RESPONSABLES DEL FRACASO EN EL TRATAMIENTO ENDODÓNTICO”**

**TESIS DE POSGRADO**

**ROXANA MENDOZA SÁNCHEZ**

**CIRUJANA DENTISTA**

**roximonster5@hotmail.com**

**TUTOR**

**CDEEP. JAVIER ANTONIO GARZÓN TRINIDAD**

**TLALNEPANTLA ESTADO DE MÉXICO, 2011.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## **DEDICATORIA**

Dedicar solo este trabajo a alguien o algunos, sería como si pensara que todo lo que hago no vale nada, así que mejor recordare a quien fue, es y seguirá siendo el motor de mi vida:

Mi mamá, que yo pienso que a veces no entiende ni de lo que hablo, ni lo que pienso, ni por qué lo hago, pero que incondicionalmente siempre está ahí para decirme lo bonito o lo bien que está hecho aunque sea la cosa más espantosa que haya visto y que sin duda alguna lo pensara de este trabajo.

Mi papá, que a nada nunca me ha dicho que no y que aunque pueda verse como una persona dura y fría, es la persona que piensa que puedo hacer casi cualquier cosa y que si no me dice que no, es porque sabe que esa no es una respuesta, no para mí.

Mi lombriz, que está presente en mi vida ya sea para reír, para enojarme o para platicar y que aunque siempre termine aburrída o con cara de asco, se que siempre va a estar para escucharlo.

Mi oso, al que le tocan los detalles buenos y sin dudar también los malos, pero que me impulsa a seguir cada día con la esperanza de que mañana puede ser mejor, aunque ese día ya lo sea por estar conmigo.

Solo son cuatro y quien diga que son pocos, es porque no logra comprender que mi amor solo se divide lo necesario, así que les toca como un 25% de mi cariño a cada uno y más les vale no desperdiciarlo.

A mis maestros, a los seres que se han cruzado en mi vida y han dejado algo bueno en ella y a mis pacientes a lo largo de esta aventura llamada Endoperio:

Gracias!!!

Roxana Mendoza Sánchez

## ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
Palabras clave	3
Marco teórico	3
Planteamiento del problema	12
Preguntas de la investigación	13
Objetivos	13
Justificación	13
Hipótesis	14
Variables	14
Tipos de variables	15
Tipo y tamaño de la muestra	15
Tipo de investigación	15
Aspectos de bioseguridad	15
Consideraciones éticas	16
Material y método	16
Cronograma de actividades	24
Resultados	25
Análisis de resultados	33
Discusión	34
Conclusiones	35
Referencias bibliográficas	36

## **RESUMEN**

Uno de los factores principales en el fracaso del tratamiento endodóntico es la permanencia de bacterias dentro de los conductos pulpares posterior a la instrumentación de estos, es por eso que a través del tiempo se ha estudiado a diversas sustancias que promuevan la desinfección durante el tratamiento al utilizarlas como irrigante. De las sustancias que se han empleado, actualmente una de las más aceptadas es el Hipoclorito de Sodio, al que se le han atribuido capacidades de desinfección y desintegración de materia orgánica presente en los conductos pulpares, más no es biocompatible, por lo que no puede ser usado en casos en donde existe fractura del diente a tratar o ápices inmaduros. Por otro lado, en casos con esta problemática y en donde se requiere de esta biocompatibilidad para no provocar daño a los tejidos esta la Clorhexidina, que es la sustancia de mayor aceptación en este tipo de tratamiento endodóntico al ser bactericida.

Ambas sustancias han sido analizadas en cuanto a la remanencia de colonias bacterianas en el interior de los conductos pulpares y en algunos casos se ha comprobado la presencia de estas. De las bacterias de mayor incidencia encontradas en los conductos pulpares ya tratados, se encuentran el *Enterococcus fecalis* y el *Staphylococcus aureus*, mientras que la *Candida Albicans* es la de mayor incidencia en cuestión de hongos.

Una sustancia que actualmente esta a la venta presume de ser un antiséptico potente, al menos en estudios realizados en donde se ha aplicado de manera tópica y sobre todo en lesiones en la piel. Este producto está hecho a base de *Melaleuca Alternifolia* o también conocida como Aceite de Árbol del Té, proveniente de Australia y utilizado desde tiempos muy antiguos por los aborígenes de esa región. La razón para creer que este producto puede ser empleado como irrigante durante el tratamiento endodóntico, es debido a que en estudios anteriores se ha demostrado su acción ante infecciones provocadas por bacterias y hongos diversos que causan enfermedad al ser humano, además de la capacidad de no permitir la adhesión de bacterias a las superficies en donde se ha aplicado.

En el siguiente protocolo se pretende comparar la actividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y *Melaleuca Alternifolia* por medio de una prueba de susceptibilidad por macrodilución en caldo, así como la obtención de la concentración mínima inhibitoria para cada una de las sustancias, esto solo utilizándolas contra las bacterias que se encuentran con mayor

frecuencia dentro de los conductos pulpares, sobre todo cuando ha fracasado un primer tratamiento de conductos.

## **INTRODUCCIÓN**

La endodoncia es una disciplina que ofrece a los pacientes la oportunidad de mantener sus dientes naturales cuando las condiciones de la pulpa se encuentran alteradas ya sea por enfermedad o necrosis, aunque también esta la posibilidad de que sin que exista ninguna de estas condiciones sea necesaria, sobre todo cuando sea con fines protésicos. A medida del crecimiento de la población y el aumento en la esperanza de vida la demanda de la terapia endodóntica se ha incrementado y se espera un incremento aun mayor como una opción del paciente al querer conservar sus dientes el mayor tiempo posible a lo largo de la vida.<sup>1</sup>

Uno de los principales factores en el fracaso del tratamiento endodóntico es debido a la presencia de bacterias remanentes dentro de los conductos pulpares, ya que aunque la instrumentación de los conductos elimina la mayor cantidad de microorganismos es necesario el uso de irrigantes y el manejo de medicamentos intraconducto para asegurar la limpieza y desinfección del conducto pulpar.

Ante la existencia en el mercado de diversas sustancias irrigantes, se han realizado numerosos estudios, siendo el Hipoclorito de Sodio en diversas concentraciones al que se le atribuyen capacidades de desinfección y desintegración de la materia orgánica presente en los conductos pulpares, sin embargo, en casos en donde se presentan fracturas o ápices abiertos, se requiere que la sustancia irrigante sea biocompatible, ya que esta no provocará daño a los tejidos periapicales y que su acción bactericida sea esencial en la desinfección del conducto. En estas sustancias que poseen efecto bactericida se encuentra la Clorhexidina, la cuál tiene capacidades similares de desinfección que el Hipoclorito de Sodio, y que al ser biocompatible es útil en procedimientos en donde existe comunicación directa al periápice.

En fechas recientes, se ha introducido al mercado mexicano un producto de origen suizo con componentes naturales de origen australiano y que se encuentra hecho a base de Melaleuca Alternifolia, este promueve la actividad bactericida y antimicótica en la cavidad oral y es un auxiliar en el tratamiento de gingivitis y enfermedad periodontal.

## **PALABRAS CLAVE**

Hipoclorito de sodio, Digluconato de Clorhexidina Melaleuca Alternifolia ó aceite árbol del te ó tea tree oil.

## **MARCO TEÓRICO**

Es de nuestro conocimiento que la instrumentación del sistema de conductos radiculares se debe complementar siempre con un método de irrigación en cantidades abundantes que sea capaz de eliminar los restos de tejido pulpar y de dentina, así como la eliminación de microorganismos que permanecen en el conducto aún cuando se ha realizado la instrumentación adecuada. La irrigación por sí sola, no tiene la capacidad de eliminar a las bacterias en su totalidad.<sup>2</sup>

Las cualidades del irrigante ideal son: su capacidad de desinfección, limpieza y arrastre físico de los elementos presentes dentro del conducto (dentina, exudado, restos alimenticios, coágulos, etc.), disolución de agentes orgánicos e inorgánicos, acción de blanqueamiento debido a la presencia de oxígeno liberado y además es deseable tenga capacidades de biocompatibilidad con el organismo, ya que en casos en donde hay comunicación al periápice no deberá causar daño a los tejidos periapicales.<sup>3</sup>

A lo largo de la historia de la endodoncia han sido utilizadas diversas sustancias con el fin de lograr la limpieza y desinfección del sistema de conductos radiculares, dentro de las cuales se encuentran las siguientes:

Soluciones químicamente inactivas:

- Solución salina. Solución utilizada en endodoncia como irrigante que minimiza la irritación e inflamación de los tejidos, productora de gran debridamiento y lubricación del conducto pulpar, no tiene capacidad alguna de destrucción química de materia microbiológica ni orgánica.<sup>4</sup>
- Agua y anestésicos. Sustancias químicamente inactivas, sin ningún tipo de actividad antiséptica, por su acción hipotónica pueden lisar bacterias sin paredes celulares que no constituyen parte de la microbiota intraconducto.

Soluciones químicamente activas:

- Detergentes. Estas sustancias tienen la capacidad de eliminar los residuos de tejido graso que quedan como resultado de la necrosis tisular. Poseen toxicidad relativamente alta y un efecto bactericida bastante limitado, son utilizados en una solución acuosa que van del 0.1% al 1%. A este grupo de irrigantes pertenecen los yodoformos que se han mostrado efectivos antimicrobianos en concentraciones de 0.05% y que en la actualidad han sido mezclados con hidróxido de calcio para su uso como medicación intraconducto.<sup>2</sup>
- Materiales descalcificantes. En este grupo se encuentran los ácidos leves, peróxido de carbamida, diacetato de aminoquialdinio, ácido cítrico y el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), de los cuáles el único que ha logrado demostrar la eliminación de la porción calcificada del barrillo dentinario es el EDTA por sus propiedades quelantes y descalcificantes. Habitualmente es utilizado al 17% y su tiempo de acción es menor a un minuto y para lograr una actividad continua es recomendable sustituirlo con una irrigación frecuente, en donde entra la actividad del NaOCl (hipoclorito de Sodio) con lo que respecta a la eliminación de la materia orgánica presente en el barrillo dentinario.<sup>2</sup>
- Peróxido de hidrógeno. Utilizado en endodoncia en concentración del 3%. Productor de efervescencia que al liberar oxígeno destruye bacterias aerobias estrictas y la expulsión de restos tisulares fuera del conducto. Su actividad antimicrobiana es resultado de su capacidad oxidativa de grupos sulfhidrilos y cadenas proteicas y lipídicas.<sup>5</sup>
- Hidróxido de Calcio (álcalis). Introducido en endodoncia por Hermann en 1920. Posee efecto antiséptico, pero es lento, de no menos de 24 horas para la eliminación de enterococos<sup>2</sup> y de degradación de tejido conectivo incompleta.<sup>4</sup> Su pH es alto con gran potencial citotóxico. Baja solubilidad en agua y difusibilidad, lo que incrementa la dificultad en el aumento del pH para la eliminación bacteriana.
- Clorhexidina. Antiséptico bisbiguanídico de molécula simétrica compuesta de dos anillos cloranfenólicos y dos grupos de biguanida conectados por un puente central de hexametileno. El mecanismo de acción de la Clorhexidina, es que desestabiliza y penetra las membranas de las células

bacterianas, precipita el citoplasma e interfiere con la función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular. En las bacterias gramnegativas, afecta la membrana exterior permitiendo la liberación de las enzimas periplasmáticas. La membrana interna de estos microorganismos no es destruida, pero sí que es impedida la absorción de pequeñas moléculas. A bajas concentraciones, exhibe un efecto bacteriostático, mientras que a altas concentraciones es bactericida. Los siguientes microorganismos muestran una alta susceptibilidad: Estreptococos, estafilococos, *Cándida albicans*, *Escherichia coli*, salmonellas, y bacterias anaeróbicas. Las cepas de *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y cocos gram-negativos muestran una baja susceptibilidad. Los estudios clínicos han demostrado que no hay un aumento significativo de la resistencia bacteriana ni desarrollo de infecciones oportunistas durante el tratamiento a largo plazo.<sup>6</sup>

- Hipoclorito de sodio (NaOCl). Sustancia proteolítica más común utilizada para la desinfección de heridas desde principios del siglo XX, capaz de disolver el tejido necrótico y residuos. Utilizada en endodoncia en concentraciones que se sugieren desde 0.5% hasta el 5.25%. El cloro libre dentro de esta sustancia, es el que tiene como objetivo la eliminación de la materia orgánica, es por esto que durante su empleo se va consumiendo y es recomendable el recambio, logrado con el uso constante durante el tratamiento endodóntico. La concentración de este irrigante al 5.25% es muy tóxica, provoca lesión y por lo tanto la necrosis innecesaria de las superficies con las que llega a tener contacto. El pH de este elemento va de 12 a 13 según la marca comercial lo que lo hace una sustancia aún más cáustica.<sup>2</sup> Dentro de los beneficios que esta sustancia puede proporcionarnos en su uso como irrigante endodóntico son: la efectividad para eliminar la materia orgánica e inorgánica, amplio espectro antiséptico con la destrucción de bacterias, hongos, esporas y virus, excelente lubricante y blanqueador de las superficies, tensión superficial baja, vida de almacenamiento prolongada y bajo costo.<sup>7</sup> Las desventajas en el uso de este producto ya mencionadas, son la irritación de los tejidos periapicales, sabor desagradable y la no remoción del barrillo dentinario.<sup>8</sup>

Aun con el uso de sustancias empleadas en la irrigación del conducto pulpar, la eliminación de las bacterias no se encuentra garantizada, esto es debido al gran número de especies bacterianas y fúngicas que permanecen y que son responsables de la mayor parte de los fracasos endodónticos.

Se reporta la presencia de cientos de microorganismos presentes en los conductos pulpares, como es la siguiente de Larz y Spangberg<sup>9</sup>:

Bacterias grampositivas. Cocos aerobios, anaerobios y facultativos: streptococcus milleri streptococcus mitior, streptococcus mutans, streptococcus sanguis y streptococcus fecalis.

Bacilos actinomices. Actinomices naeslundii y Actinomyces viscosus.

Bacterias anaerobias grampositivas. Streptococcus constellatus, streptococcus intermedius y streptococcus morbillorum. Peptostreptococcus anaerobios: magnus, micro y prevotii. Actinomices israelii, actinomices meyeri y actinomices odontolyticus. Arachnia propionica. Enterobacterium alactolyticum, enterobacterium brachy, enterobacterium lentum, enterobacterium nodatum y enterobacterium timidum. Lactobacillus catenaforme y lactobacillus minutus. Propionibacterium acnes.

Bacterias gramnegativas. Bacterias aerobias, anaerobias y facultativas. Capnocytophaga ochracea, eikenella corrodens y campylobacter sputorum.

Bacterias gramnegativas anaerobias. Cocos, veillonella perbula, bacilos, prevotella, paphyromon buccae, paphyromon dentícola, paphyromona endodontalis, paphyromona gingivallis, paphyromona intermedia loeschei, paphyromona oralis, paphyromona oris, y B. ureoliticus. Fusobacterium nucleatus, Selenomonas Sputigena y Welionella recta y curva.

Los microorganismos que con mayor frecuencia son encontrados dentro de los conductos radiculares en donde el tratamiento pulpar ha fracasado, son: Enterococcus fecalis, Candida Albicans y Staphylococcus aureus.

### **Enterococcus fecalis**

El enterococcus fecalis es una bacteria grampositiva, anaerobia facultativa que habita en el tracto gastrointestinal de los seres humanos que puede causar infección en el individuo. Es un indicador de contaminación fecal y de alta resistencia a condiciones ambientales extremas. Presenta resistencia a los

antibióticos como: aminoglicósidos, aztreonam, cefalosporina, clindamicina, las penicilinas semisintéticas (nafcilina , oxacilina, amoxicilina y trimetoprim-sulfametoxazole).<sup>10</sup> *Enterococcus fecalis* es un microorganismo común detectado en las infecciones pulpares asintomáticas persistentes en endodoncia, su prevalencia en esta rama oscila en números que van del 24% al 77%. Estos resultados pueden ser explicados por varios factores de virulencia que posee el *enterococcus fecalis*, incluyendo su capacidad para competir con otros microorganismos, invadir los túbulos dentinarios, y resistir la privación del aporte nutricional. La inclusión de la clorhexidina en la endodoncia en combinación con hipoclorito de sodio, son actualmente los métodos más eficaces para luchar contra este microorganismo.<sup>11</sup>

A *Enterococcus fecalis*, se le ha encontrado responsable de la mayor parte de las enfermedades en el ser humano causadas por *enterococcus*, así como el principal agente causal de las enfermedades pulpares recurrentes, aun incluso cuando se ha realizado la obturación de los conductos, se ha demostrado la filtración de esta bacteria a través del material obturador, en estudios de comparación de la presencia de esta bacteria en conductos pulpares, se ha demostrado su presencia en el 89.6% de los casos en donde ha existido retratamiento de conductos y en casos en donde se ha analizado en infección primaria, se ha ubicado en el 67.5% de los casos.<sup>12</sup>

Un factor de virulencia importante del *Enterococcus fecalis* es su capacidad para formar biopelículas. La mayoría de estudios sobre la formación de biopelículas se han llevado a cabo mediante el uso de monocultivos de *E. fecalis*. Dada la naturaleza polimicrobiana de las infecciones del conducto pulpar, es importante entender la formación de biopelículas de *E. fecalis* en el presencia de otros microorganismos, como el *Streptococcus mutans*, que ha demostrado ser una bacteria que facilita la viabilidad del *Enterococcus fecalis*.<sup>13</sup> La capacidad de formar biofilms de estas bacterias, se ha comprobado, disminuye la capacidad de acción de las sustancia irrigantes, principalmente en estudios realizados con hipoclorito de sodio al 5.25% en donde la formación de biofilms dentro de los conductos pulpares no ha permitido la eliminación por completo del *Enterococcus fecalis*<sup>14</sup>, se ha demostrado el Hipoclorito de sodio es el mas efectivo, debido a que la concentración mínima inhibitoria en contra de este microorganismo es de 0.00625% después de un minuto, mientras que con la clorhexidina es en una concentración del 2% en 5 minutos como mínimo de exposición.<sup>15</sup>

## **Candida Albicans**

Las especies de *Candida*, forman parte de la flora normal del ser humano, son la causa más frecuente de infección conocida desde los tiempos de Hipócrates, y que la cavidad oral es ideal para su desarrollo. Con los años se ha demostrado su presencia en el 25% de los pacientes adultos sanos y en un 50% de los adultos hospitalizados.<sup>17</sup>

La *Candida*, tiene numerosas moléculas en su superficie, responsables de su adherencia a los tejidos del huésped. Otros factores de virulencia son una aspartilproteinasa, que participa en la invasión tisular al degradar las proteínas de la matriz extracelular, y una adenosina secretada, que bloquea la producción de radicales de oxígeno en los neutrófilos y su degranulación.<sup>16</sup>

Se ha comprobado en estudios recientes la predisposición de la *Candida Albicans* en boca ante factores como son: la disminución en el flujo salival, pobre higiene oral, presencia de prótesis fija y removable, enfermedades sistémicas, con mayor predisposición por la diabetes, tumores malignos, terapia citotóxica e infecciones por VIH. Además de comprobar su presencia en la placa dentobacteriana, lesiones cariosas, túbulos dentinarios, flora subgingival y en los conductos radiculares, en este último, porcentajes que van del 7 al 55%.<sup>17</sup>

Se ha reportado la presencia de hongos en diferentes estudios: del autor Sen<sup>17</sup>, quién encontró la presencia de levaduras en 4 de cada 10 dientes extraídos a consecuencia de lesiones perirradiculares; Siqueira Et. Al.<sup>18,19</sup>, investigó los patrones de colonización en infecciones primarias de los conductos radiculares encontrando en 1 de cada 15 dientes examinados la presencia de levaduras; Baumgartner Et. Al.<sup>20</sup> Detectó la presencia de *Candida Albicans* en el 21% de las muestras tomadas de los conductos radiculares; Nair Et. Al. Observó la presencia de levaduras en 2 de 9 biopsias de los bloques obtenidos en cirugía de lesiones perirradiculares secundarias a un tratamiento endodóntico; Waltimo Et. Al.<sup>21, 22, 23,</sup><sup>24</sup> Reportó la ocurrencia de hongos en el 7% de las lesiones persistentes de conductos radiculares ya sea en colonias enteramente formadas por hongos o en presencia de microorganismos de origen bacteriano; Sundqvist Et. Al. Demostró la presencia de *Candida Albicans* en 2 de 24 conductos tratados de manera endodóntica con infección refractaria; Molander Et. Al. Encontró *Candida Albicans* en 3 de 68 dientes con lesiones perirradiculares crónicas; Peciuliene Et. Al. Encontró a esta misma especie de *Candida* en 6 de 33 dientes asociados a lesiones perirradiculares.<sup>25, 26</sup>

Se ha demostrado que la colonización por hongos resulta de patologías asociadas a tratamientos de conductos radiculares fallidos. La presencia *Candida Albicans* se ha detectado en el 21% de los conductos radiculares y uno de los factores que predisponen la infestación de los conductos radiculares por *Candida Albicans* se debe a la colocación de medicación intraconducto, el uso de antibióticos locales y a nivel sistémico y tratamientos de conductos insatisfactorios. Para la erradicación de este microorganismo se han propuesto el tratamiento o el retratamiento endodóntico, o bien, la cirugía endodóntica.<sup>27</sup>

La presencia de levaduras dentro de los conductos radiculares posterior al tratamiento endodóntico, supone que el uso de irrigantes durante el tratamiento destruye al resto de los microorganismos y que esto sea lo que favorece el crecimiento de las cepas fúngicas.<sup>26</sup>

Con base a las propiedades del Hipoclorito de Sodio se utiliza también contra la *Candida*<sup>27</sup> aunque en algunos estudios, se ha comprobado una mayor resistencia de la *Candida* ante la presencia de barrillo dentinario<sup>17</sup>, para el cuál se propone además del Hipoclorito, el uso de ácido etilendiamintetracético (EDTA) que ha demostrado actividad antifúngica. El Hipoclorito de sodio al 6% ha demostrado una actividad antifúngica similar a la demostrada por el Gluconato de Clorhexidina al 2%, ambas sustancias son superiores a la capacidad de agentes irrigantes a base del MTA de Torabinejead (mineral trióxido agregado), esta última demuestra una actividad antifúngica mayor a la del EDTA al 17%.<sup>26</sup>

### **Staphylococcus aureus**

Bacteria anaerobia facultativa. Su temperatura óptima de crecimiento va de 35 a 40 °C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 aunque soportan pH mucho más extremos. Soportan tasas elevadas de cloruro sódico, hasta un 15%. Se le relaciona directamente como el agente causal de Neumonía, sialadenitis, sepsis con o sin metástasis (osteítis, artritis, endocarditis, abscesos localizados), orzuelos. Enfermedades por toxinas (síndrome de la piel escaldada, síndrome del shock tóxico y gastroenteritis).

Es momento de hacer mención de la *Melaleuca Alternifolia*, que es una sustancia antiséptica, biocompatible y que es conocida como aceite del árbol del té (Tea Tree Oil), que es el derivado resultado de un proceso de destilación de la corteza

del árbol australiano del mismo nombre Melaleuca Alternifolia de la familia de las mirtáceas redescubierta en 1920 como un antiséptico tópico <sup>29</sup> al la cuál se le han atribuido propiedades antisépticas debido a sus componentes, los cuáles son aproximadamente 100 terpenos, como el terpineno-4-ol. Los terpenos lipofílicos penetran la membrana celular de los microorganismos y brindan un efecto tóxico en su estructura y funciones. <sup>29, 30, 31</sup>

Los aborígenes australianos han utilizado las hojas de este árbol desde hace miles de años, remojadas en agua como infusión o en compresas para tratar la fiebre, úlceras en la garganta y heridas. <sup>32</sup>

El aceite del árbol del té, ha demostrado una gran actividad contra un gran rango de bacterias grampositivas y gramnegativas, levaduras y hongos. <sup>33, 34, 35</sup>

Estudios realizados mediante el uso tópico de este aceite esencial, han dado buenos resultados en su mayoría de uso como agente antifúngico. Además se ha utilizado como auxiliar en el tratamiento de acné, pie de atleta, reacciones alérgicas en la piel, mal aliento, caspa, eliminación de placa dentobacteriana, gingivitis, infecciones oculares, infecciones genitales por Herpes, erradicación de piojos, infecciones persistentes por Staphylococcus aureus , candidiasis oral e infecciones vaginales. <sup>36</sup>

Los estudios demuestran que la Melaleuca Alternifolia, posee cierto grado de toxicidad en uso oral al ser ingerido y en casos en donde se ha aplicado de manera tópica directo en la piel se ha observado la presencia de dermatitis por contacto, lo que limita a este agente antimicrobiano con ciertos pacientes. <sup>36</sup>

Las enfermedades orales, de las cuales la caries dental y la periodontitis ocupan el mayor porcentaje, son consideradas enfermedades mundiales infecciosas totalmente previsivas. La salud oral influye directamente sobre el estado general de salud y la higiene oral defectuosa o nula se encuentra directamente asociada a padecimientos crónicos y a enfermedades sistémicas. La combinación de dichos factores afecta directamente a la economía de un individuo y por lo tanto de la nación en general. Es por eso que se han investigado soluciones efectivas y económicas a los padecimientos dentales, dentro de los cuáles se han estudiado a las plantas tales como la sábila, la manzanilla alemana, la Melaleuca Alternifolia entre otras. <sup>37</sup>

La Melaleuca Alternifolia, ha sido aislada y estudiada con respecto a un gran número de las bacterias presentes en boca por Hammer, quien ha determinado que las cantidades mínimas inhibitorias y las cantidades mínimas bactericidas van

en un rango del 0.003 al 2 %. Se ha demostrado que los aceites esenciales, dentro de los cuáles se encuentra la Melaleuca Alternifolia son capaces de inhibir la adhesión de *S. Mutans* y *P. Gingivalis*.<sup>34</sup> También, se ha utilizado el aceite de Melaleuca como auxiliar en el tratamiento de estomatitis orales provocadas por el uso de prótesis totales, en conjunto con algunos acondicionadores de tejidos orales, dando buenos resultados para la eliminación de la *Candida Albicans* y de la sintomatología que constituye predominantemente la inflamación de paladar.<sup>38</sup>

En casos en donde la actividad de la Melaleuca ha sido utilizada en pacientes con VIH, se ha demostrado disminución de la sintomatología de las lesiones orales persistentes en este tipo de pacientes, sobre todo en pacientes que han presentado refracción a ciertos antimicóticos como el Fluconazol en el caso de candidiasis orofaríngea. En este caso se ha demostrado no solo la inhibición de los síntomas, sino que también se demostró la eficacia en la eliminación de la *Candida* en 7 de 8 pacientes.

En un estudio realizado con la finalidad de evaluar la cantidad de barro dentinario eliminado por diversas sustancias en donde participaron la Manzanilla Alemana, el Hipoclorito de Sodio al 2.5%, la Melaleuca Alternifolia y una combinación entre Hipoclorito de sodio al 2.5% y EDTA como un último irrigante, se determinó que no existe diferencia significativa entre la cantidad removida de barrillo dentinario con el uso de Hipoclorito de Sodio al 2.5%, Manzanilla Alemana y Melaleuca Alternifolia.<sup>8</sup>

Se ha estudiado también la toxicidad que pudiese tener este aceite en el organismo en cuanto al uso tópico, realizándose estudios en animales en donde los niveles de toxicidad son casi nulos en las dosis comerciales manejadas, sin embargo, en el ser humano si se han presentado casos de hipersensibilidad a la Melaleuca Alternifolia. En casos en donde el aceite de Melaleuca ha sido ingerido, se ha observado reacciones cutáneas y desorientación leve, sin embargo, en un solo caso se ha presentado la pérdida de la conciencia.<sup>39</sup>

El uso del aceite del árbol del té, ha sido utilizado para eliminación de *S. Aureus* dentro de los biofilms y se ha encontrado que afecta a la fase de crecimiento de este así como su eliminación en ambas fases como son la plantónica y como biofilm. Las cantidades en cuanto a la concentración mínima requerida para su erradicación son dos veces mayores a la cantidad mínima requerida bactericida y nunca es mayor al 1%. La etapa en donde mayor actividad bactericida hacia el biofilm es de 15 minutos, sin embargo las bacterias que se encuentran

mayormente afectadas son las plantónicas estáticas en comparación a las que se encuentran en fase exponencial.<sup>40</sup>

Actualmente se encuentra a la venta un producto de origen suizo llamado Tebodont, en el cuál la Melaleuca Alternifolia es su componente principal y dependiendo de la presentación ya sea en pasta, gel o enjuague, el componente principal va desde el 0.75% hasta el 2% y las recomendaciones de uso propuestas por el fabricante son la gingivitis, periodontitis, control de placa dentobacteriana, candidiasis oral, aftas y xerostomía. Cabe recordar que las concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas propuestas por Hammer van del 0.003 al 2%.<sup>34</sup> Sin embargo, en la literatura revisada, existen revisiones respecto al componente principal, Melaleuca Alternifolia en cuanto a su capacidad de remoción de barrillo dentinario y en determinadas patologías bucales, pero no en cuanto a las capacidades desinfectantes que este pudiese tener en referencia a los conductos pulpares.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Sabemos que el Hipoclorito de Sodio en diversas concentraciones tiene capacidades antisépticas dentro de los conductos pulpares, además de la desintegración de la materia orgánica presente dentro de estos mismos, la clorhexidina como agente irrigante en endodoncia, también ha demostrado tener capacidades antimicrobianas, pero no posee capacidad de destrucción ante la materia orgánica presente en los conductos pulpares. Es preciso conocer las capacidades bactericidas del aceite del árbol del té (Melaleuca Alternifolia) conocida comercialmente como Tebodont, en su uso como irrigante dentro de los conductos pulpares durante el tratamiento endodóntico, ya que la literatura menciona aún la eliminación del *Enterococcus fecalis* que es la bacteria que con mayor frecuencia se encuentra en casos en donde ha fracasado el tratamiento endodóntico. Por lo tanto, se pretende conocer con este estudio la capacidad antimicrobiana de la Melaleuca Alternifolia con respecto a las bacterias de mayor persistencia dentro de los conductos pulpares: *Candida Albicans*, *Enterococcus fecalis* y *Staphylococcus aureus*, las cuales son responsables de la mayor parte del fracaso endodóntico.

## **PREGUNTAS DE LA INVESTIGACIÓN**

¿Tiene la Melaleuca Alternifolia la misma actividad bactericida contra hongos como la Candida Albicans y en bacterias como el Enterococcus fecalis y el Staphylococcus aureus que la solución de cloro y Clorhexidina?

¿Existe diferencia significativa en el efecto antimicrobiano in vitro de Tebodont (Melaleuca Alternifolia), el Hipoclorito de Sodio al 2.5% y el Gluconato de Clorhexidina al 2% contra hongos como la Candida Albicans y en bacterias como el Enterococcus fecalis y el Staphylococcus aureus?

## **OBJETIVOS**

Demostrar la efectividad bactericida del Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra ciertas bacterias: Candida Albicans, Enterococcus fecalis y Staphylococcus aureus, halladas en la periodontitis apical crónica en su uso como irrigante durante el tratamiento endodóntico.

Comparar las capacidades bactericidas del Hipoclorito de Sodio, Gluconato de Clorhexidina y las de Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra ciertas bacterias: Candida Albicans, Enterococcus fecalis y Staphylococcus

## **JUSTIFICACIÓN**

La Melaleuca Alternifolia es un árbol al que se le han atribuido capacidades antisépticas y ha sido utilizado como auxiliar en el tratamiento de infecciones desde hace miles de años por los aborígenes australianos y actualmente se ha demostrado la capacidad de este aceite como un potente bactericida que actúa contra bacterias grampositivas y gramnegativas, levaduras y hongos. Ha sido utilizada en el tratamiento de estomatitis orales, candidiasis y control de placa dentobacteriana con éxito, aún en pacientes que presentan sensibilidad a ciertos fármacos y en pacientes con enfermedades específicas como es el VIH y el cáncer. Es por esto que se pretende el uso de este aceite esencial en el tratamiento endodóntico como irrigante, ya que en algunos casos en donde se ha irrigado con hipoclorito de sodio o con clorhexidina existe persistencia de Enterococcus fecalis, Candida Albicans y Staphylococcus aureus.

## **HIPÓTESIS**

Si el Tebodont (Melaleuca Alternifolia), es un agente irrigante con mejor o igual potencial bactericida que el Hipoclorito de Sodio y la Clorhexidina contra: Enterococcus fecalis, Candida Albicans y Staphylococcus aureus, entonces tendrá mayor inhibición de unidades formadoras de colonias bacterias o eliminará cantidades similares de bacterias que el Hipoclorito de sodio y la Clorhexidina.

## **HIPÓTESIS NULA**

Si el Tebodont (Melaleuca Alternifolia), no es un agente irrigante con mejor o igual potencial bactericida que el Hipoclorito de Sodio y la Clorhexidina contra: Enterococcus fecalis, Candida Albicans y Staphylococcus aureus, entonces no tendrá mayor inhibición de unidades formadoras de colonias bacterias y no eliminará cantidades similares de bacterias que el Hipoclorito de sodio y la Clorhexidina.

## **VARIABLES**

<b>Variable</b>	<b>Tipo</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Unidad de medida</b>
Hipoclorito de Sodio	Independiente/continua	Antiséptico	Porcentaje de dilución
Clorhexidina	Independiente/continua	Antiséptico	Porcentaje de dilución
Melaleuca Alternifolia	Independiente/continua	Antiséptico	Porcentaje de dilución
Enterococcus fecalis	Dependiente	Agente microbiano	UFC/ml
Candida Albicans	Dependiente	Agente microbiano	UFC/ml
Staphylococcus Aureus	Dependiente	Agente microbiano	UFC/ml

## **TIPOS DE VARIABLES**

Se trata de variables independientes y continuas en el caso de las sustancias a emplear: Hipoclorito de Sodio, Melaleuca Alternifolia y Clorhexidina, ya que estas serán manipuladas en concentraciones diversas.

Se trata de variables dependientes en el caso de las bacterias (Enterococcus fecalis, Candida Albicans y Staphilococcus aureus), que se emplearán de acuerdo a los estándares para esta prueba que constan de 1ml de suspensión bacteriana en donde ya se encuentra diluida cada bacteria a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/ml.

## **TIPO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA**

En este caso los tubos a emplear serán en total 90, esto debido a que de acuerdo a los estándares establecidos por el NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), establecen que en este tipo de prueba, conocido como prueba de susceptibilidad por macrodilución en caldo se utilicen 10 tubos para cada una de las sustancias a emplear, en esta caso se emplearán 3, pero además serán utilizados 3 tipos de agentes microbiológicos, lo que nos da lo siguiente:

$$10 \text{ tubos} \times 3 \text{ sustancias} = 30 \text{ tubos} \times 3 \text{ agentes microbiológicos} = 90 \text{ tubos}$$

## **TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Experimental, prospectivo, prolectivo, no aleatorizado

## **ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD**

El riesgo de lesión, contagio o accidente en este protocolo es nulo siempre y cuando se mantengan las medidas de prevención necesarias en la manipulación de las muestras, será necesario para mantener la integridad de las muestras y la manipulación de las mismas, el uso de barreras físicas (guantes de látex, cubrebocas y anteojos de seguridad) en todo momento de manipulación de los materiales empleados.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Ninguna.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

### **MATERIAL**

- Suspensiones bacterianas 10(8) UFC/ml: Enterococcus fecalis (ATCC 29212) y Staphylococcus aureus (ATCC 29213).
- Suspensión fúngica 10(8) UFC/ml: Candida Albicans (ATCC 10231)
- Hipoclorito de sodio al 13%
- Gluconato de Clorhexidina al 20%
- Aceite esencial del árbol del té (Melaleuca Alternifolia) al 100% (TTO)
- Agar Mueller-Hinton (M-H)
- Tubos con tapón de rosca (Pyrex)
- 93 Tubos de ensaye de 13x100 (Pyrex)
- Matraces nefelométricos de 100 ml
- Matraz de 50 ml
- Espejo visor
- Asa bacteriológica
- Mechero de Bunsen
- Estufa de cultivo
- Autoclave
- Micropipeta de 1000 y 200 microlitros
- Computadora con programa Windows Excel
- Cámara fotográfica digital

### **MÉTODO**

La realización de esta investigación se efectuó en el Laboratorio Central del Hospital General de México O.D.

Para la realización de la metodología, se inició con el método de microdilución en tubo, será necesario el uso de Agar Mueller-Hinton, el cuál cumple con los requerimientos de la Organización Mundial de la salud y está especificado en la FDA. Este medio es el seleccionado por la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) para realizar las pruebas de susceptibilidad, por su alta reproductibilidad, su bajo contenido de sustancias inhibitoras y el crecimiento

## Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico

17

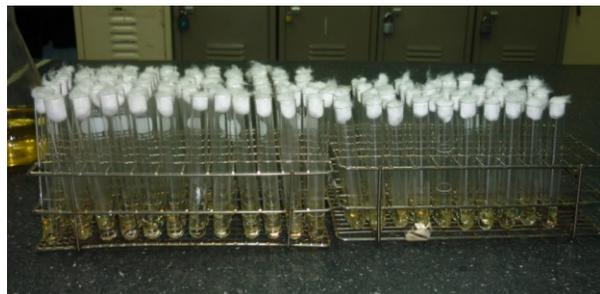
satisfactorio que presentan la mayoría de los patógenos no fastidiosos. En este medio, la infusión de carne y la peptona de caseína proveen la fuente de nitrógeno, vitaminas, carbón y aminoácidos. El almidón es agregado para absorber cualquier metabolito tóxico y el agar es adicionado como agente solidificante.

Para la preparación del agar Mueller-Hinton es necesario suspender 38 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Se dejó que el agar enfriara y se vació en los 93 tubos de ensaye la cantidad de 2.5 ml en cada uno, después de esto se esterilizó en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos, posterior a ello, se dejó enfriar.



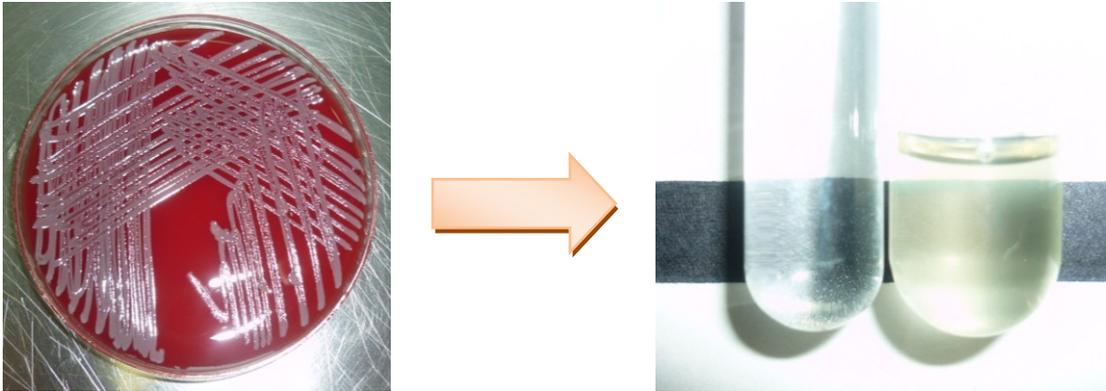
Cabe mencionar que los microorganismos en este momento ya han sido cultivados: *Candida Albicans*, *Enterococcus fecalis* y *Staphylococcus aureus*, estos se encontraran en cajas petri con un medio de cultivo de Agar sangre.

Para la preparación de estos a modo de suspensión ajustados a la turbidez del agar de cultivo con crecimiento activo a la densidad de 0.5 estándar de McFarland, serán necesarios 3 tubos que contengan 2.5ml de agar Mueller-Hinton.



Para la realización de la suspensión de bacterias, se tomó una a una las cajas de petri con la siembra de bacterias correspondiente y con la ayuda del mechero y un asa bacteriológica, se tomó la primera muestra de bacterias y se depositó en el primer tubo con agar M-H y se agitó hasta lograr homogenizar esta mezcla de bacterias con el agar. Con la ayuda de un tubo de ensaye que nos proporcionó el Laboratorio Central del HGM y que se encuentra estandarizado a una densidad

del 0.5 de Mc-Farland se calculó la densidad para cada una de las suspensiones de bacterias.



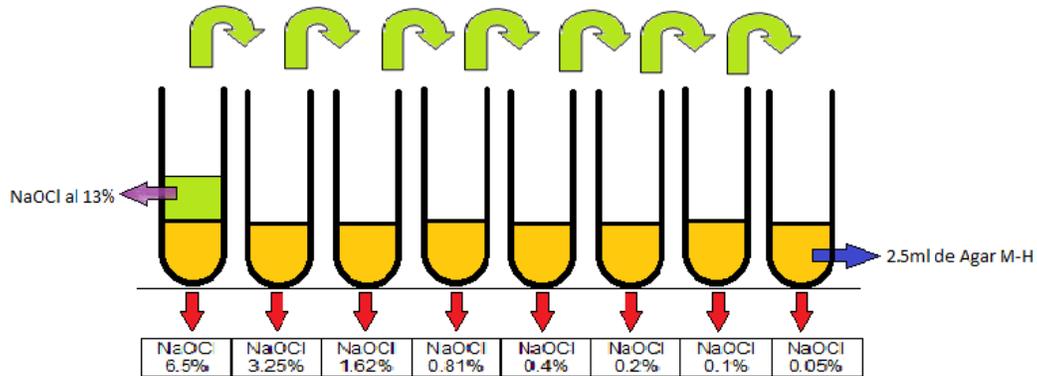
Posterior a la preparación del agar en cada uno de los tubos a emplear y las suspensiones de bacterias, iniciamos separando al azar, nueve de los tubos preparados para la prueba con el fin de mantenerlos libres de la contaminación bacteriana que será producida para la investigación. Posterior a esto, se tomaron al azar uno a uno hasta llegar a ocho los tubos de ensaye para la primera fase, siendo estos a los que se les agregará la primera sustancia que será el hipoclorito de sodio que diluimos en serie de la siguiente forma:

1. Tomamos el primer tubo con 2.5 ml de Agar M-H y le agregamos 2.5 ml de NaOCl al 13%, por lo tanto de esta primera dilución obtenemos un caldo de cultivo que contendrá NaOCl al 6.5%.
2. Tomamos un segundo tubo con 2.5 ml de Agar M-H y le agregamos 2.5 ml del caldo contenido en el Tubo1, de esta dilución obtenemos caldo de cultivo que contenga NaOCl al 3.25%.
3. Repetimos el paso dos, con un tercer tubo, diluyendo ahora nuestro caldo de cultivo que contiene NaOCl al 1.62%.
4. Se realizó exactamente lo mismo para los tubos 4, 5, 6, 7 y 8, quedando como resultado diluciones de la siguiente forma:

TUBO	CONCENTRACIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO
1	6.5%
2	3.25%
3	1.62%
4	0.81%
5	0.40%
6	0.20%
7	0.10%
8	0.05%

**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

A continuación se explica de forma detallada el procedimiento de dilución en cada uno de los tubos:



Este procedimiento de agregar el hipoclorito de sodio se realizó tres veces con cada una de las concentraciones de hipoclorito de sodio, del modo en que nos queden al final 24 tubos con el hipoclorito. Es importante que en cada movimiento realizado, los tubos vayan marcándose con la concentración de hipoclorito empleada y vayan colocándose en orden en una rejilla, es decir, emplearemos tres rejillas en donde se colocarán de la siguiente forma:

NaOCl al 6.5%	NaOCl al 3.25%	NaOCl al 1.62%	NaOCl al 0.81%	NaOCl al 0.40%	NaOCl al 0.20%	NaOCl al 0.10%	NaOCl Al 0.05%
---------------------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------

(X 3 rejillas)

24 TUBOS

Para la siguiente sustancia, se emplearon exactamente la misma cantidad de tubos con agar (8), solo que en este caso empleamos el Gluconato de Clorhexidina, en donde se diluyó del mismo modo que el hipoclorito de sodio, ya que esta se encuentra de inicio en una concentración del 20%. Al diluir la clorhexidina, obtuvimos las siguientes concentraciones:

**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

TUBO	CONCENTRACIÓN DE GLUCONATO DE CLORHEXIDINA
1	10%
2	5%
3	2.5%
4	1.25%
5	0.62%
6	0.31%
7	0.15%
8	0.07%

Este procedimiento de agregar el Gluconato de Clorhexidina se realiza tres veces con cada una de las concentraciones de Clorhexidina, del modo en que nos queden al final 24 tubos con esta. En cada movimiento realizado, los tubos fueron marcándose con la concentración de Clorhexidina empleada y se colocaron en orden en las mismas rejillas en donde se colocaron los de Hipoclorito de Sodio, es decir, se colocaron de la siguiente forma:

NaOCl al 6.5%	NaOCl al 3.25%	NaOCl al 1.62%	NaOCl al 0.81%	NaOCl al 0.40%	NaOCl al 0.20%	NaOCl al 0.10%	NaOCl Al 0.05%
CHX 10%	CHX 5%	CHX 2.5%	CHX 1.25%	CHX 0.62%	CHX 0.31%	CHX 0.15%	CHX 0.07%

(X 3 rejillas)

AHORA TENEMOS 48 TUBOS

En el momento en que se realizaron las diluciones con clorhexidina presenciamos un pequeño problema, que consistió en que el agar en combinación con el Digluconato de Clorhexidina se precipitó, condición que no debe existir para su observación posteriormente. Pero se continuó con las diluciones correspondientes al Tebodont, esperando una sedimentación u homogenización de la mezcla de sustancias.

Ya para terminar con la situación de las sustancias utilizamos el aceite esencial de árbol del té (Melaleuca Alternifolia) conocido comercialmente como Tebodont, ahora utilizamos 8 tubos con agar, en donde se repitió el procedimiento de las diluciones al igual que con el hipoclorito de sodio y la clorhexidina, ahora con el aceite esencial de árbol del té, ya que este se encuentra de inicio al 1.5%. Terminando la primera serie de 8 tubos seguimos con otra serie de 8 y finalizamos

**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

con una tercera serie de 8 tubos, en donde quedaron las siguientes concentraciones:

TUBO	CONCENTRACIÓN DE ACEITE DE ÁRBOL DEL TÉ
1	0.75%
2	0.37%
3	0.18%
4	0.09%
5	0.04%
6	0.02%
7	0.01%
8	0.005%

Este procedimiento con aceite de árbol del té, al igual que con las otras dos sustancias al final quedaron 24 tubos con aceite de árbol del té. Es importante que en cada movimiento realizado, los tubos se han marcando con la concentración de aceite de árbol del té empleada y se colocaron en orden en las mismas rejillas en donde se colocaron los de Hipoclorito de Sodio y los de Clorhexidina, es decir, de la siguiente forma:

NaOCl 6.5%	NaOCl 3.25%	NaOCl 1.62%	NaOCl 0.81%	NaOCl 0.40%	NaOCl 0.20%	NaOCl 0.10%	NaOCl 0.05%
CHX 10%	CHX 5%	CHX 2.5%	CHX 1.25%	CHX 0.62%	CHX 0.31%	CHX 0.15%	CHX 0.07%
TTO 0.75%	TTO 0.37%	TTO 0.18%	TTO 0.09%	TTO 0.04%	TTO 0.02%	TTO 0.01%	TTO 0.005%

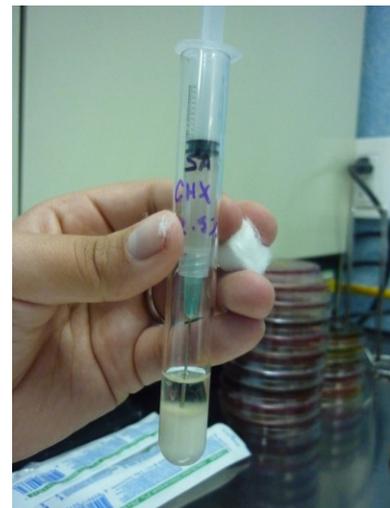


De modo que ahora en cada una de las tres rejillas con tubos tenemos 24 tubos. En este momento, se coloca un tubo con agar al final de cada una de las filas de tubos en las rejillas, esto antes de las concentraciones mas bajas de las sustancias diluidas empleadas, ahora habrá 27 tubos por rejilla.

Tomamos la primera rejilla a la cuál llamaremos rejilla 1. Con los tubos ya con agar y las sustancias antimicrobianas entonces realizamos la inoculación en cada uno de los tubos con la primera suspensión bacteriana a emplear, en este caso al *Enterococcus Fecalis*, que tomando en cuenta que se encuentra estandarizada en una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/ml y que el inóculo no deberá exceder al 10% del volumen del receptáculo, es decir, solo se coloca 0.1 ml de la suspensión bacteriana a cada tubo.

Cambiaremos ahora a la rejilla 2, en donde del mismo modo, utilizamos como agente inculador al *Staphylococcus Aureus*  $1 \times 10^8$  UFC/ml en cada uno de los tubos de ensaye, mientras que de la misma manera realizamos el procedimiento en la rejilla 3 pero ahora utilizando a la *Candida Albicans*  $1 \times 10^8$  UFC/ml como inculador.

Finalmente tomamos los nueve tubos que separamos al inicio y que no contienen nada más que el agar Mueller-Hinton y los colocaremos al inicio de cada una de las filas de tubos de cada rejilla quedando entonces 30 tubos en cada una del siguiente modo:



**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

Tubo solo con agar	NaOCl al 6.5%	NaOCl al 3.25%	NaOCl al 1.62%	NaOCl al 0.81%	NaOCl al 0.40%	NaOCl al 0.20%	NaOCl al 0.10%	NaOCl al 0.05%	Tubo inoculado
Tubo solo con agar	CHX 10%	CHX 5%	CHX 2.5%	CHX 1.25%	CHX 0.62%	CHX 0.31%	CHX 0.15%	CHX 0.07%	Tubo inoculado
Tubo solo con agar	TTO 0.75%	TTO 0.37%	TTO 0.18%	TTO 0.09%	TTO 0.04%	TTO 0.02%	TTO 0.01%	TTO 0.005%	Tubo inoculado

Ahora tomamos cada una de las rejillas y las metimos a la estufa de incubación a 35° C con la finalidad de revisar los cultivos al cabo de 24 horas, los resultados se anotaran en la bitacora, además del registro fotográfico para cada uno de los cultivos. Al final del periodo de incubación los tubos se examinarán visualmente controlando la turbidez. La turbidez nos indicará el crecimiento obtenido para cada uno de los tubos y es de esta en donde nos basaremos para determinar el crecimiento o la nulidad, que será en el tubo en donde no exista turbidez en su contenido. La observación será auxiliada por un espejo visor.

Los tubos fueron revisados uno a uno minuciosamente al cabo de 24 horas posteriores a su inoculación con la bacteria correspondiente, sin embargo desde el momento de realizar las diluciones con Digluconato de Clorhexidina en cada uno de los tubos observamos una leve precipitación que se formaba cuando esta contactaba con el agar Mueller-Hinton, por lo que en ese momento decidimos que se realizaría la inoculación con bacterias de igual modo y que estas entrarían a la estufa al igual que los demás tubos y esperando que el precipitado desapareciera al cabo del reposo de la sustancia. Sin embargo esta situación no mejoro después de las 24 horas de incubación, por lo que decidimos que en ese momento se realizaría una siembra masiva en cajas de petri con agar sangre y que el inoculo a sembrar sería el contenido de cada uno de los tubos correspondientes a Digluconato de Clorhexidina, de igual modo estas cajas fueron incubadas 24 horas más para su observación.



Observamos todos y cada uno de los tubos empleados para el estudio.

**CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES**

PROCEDIMIENTO	FECHA
Preparación de los tubos con agar Mueller-Hinton, esterilización de estos y prueba de esterilidad de 9 tubos al azar en estufa.	26 Julio 2011
Dilución de las sustancias, marcación de los tubos e inoculación de todos los tubos e inicio del periodo de incubación.	27 Julio 2011
Salida de la estufa y observación de cada uno de los tubos	28 Julio 2011
Repeticiones y correcciones en el procedimiento	28 Julio 2011 Al 9 Agosto 2011
Análisis de resultados y realización de gráficas de los mismos	Agosto 2011

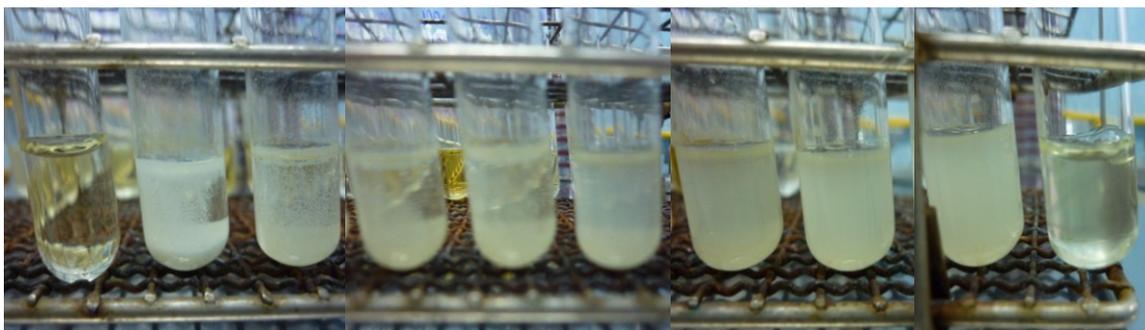


**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

Gradilla 3

Candida albicans:

Tubo solo con agar	NaOCl 6.5%	NaOCl 3.25%	NaOCl 1.62%	NaOCl 0.81%	NaOCl 0.40%	NaOCl 0.20%	NaOCl 0.10%	NaOCl 0.05%	Tubo inoculado
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Tubo solo con agar	CHX 10%	CHX 5%	CHX 2.5%	CHX 1.25%	CHX 0.62%	CHX 0.31%	CHX 0.15%	CHX 0.07%	Tubo inoculado
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Tubo solo con agar	TTO 0.75%	TTO 0.37%	TTO 0.18%	TTO 0.09%	TTO 0.04%	TTO 0.02%	TTO 0.01%	TTO 0.005%	Tubo inoculado
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

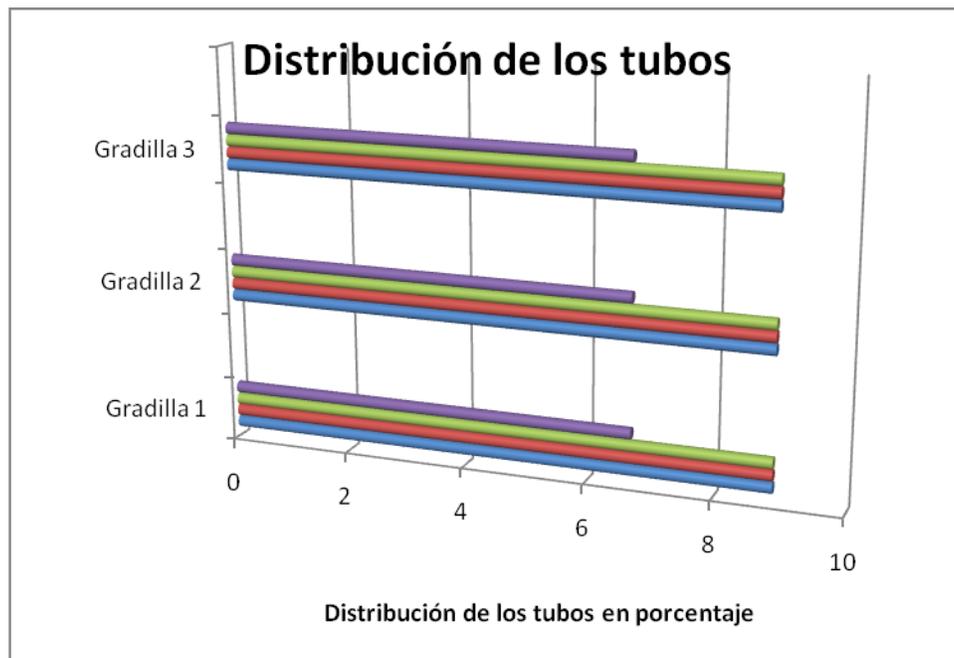


Estos mismos resultados se transfirieron a una base de datos y por medio del programa PASW statistics se realizaron una serie de tablas y en base a estas se realizaron gráficos para facilitar su comprensión:

La primera tabla nos muestra el número total de tubos empleados, su distribución para el estudio de acuerdo a la sustancia que fue empleada en cada uno de ellos, así como su ubicación en cada una de las gradillas y el porcentaje que represento cada gradilla y grupo de tubos en el estudio, la grafica que se muestra a continuación de la tabla demuestra los datos de esta.

**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

		Sustancia				Total
		NaOCI	Clorhexidina	Tebodont	Ninguna	
Gradilla 1	Recuento	8	8	8	6	30
	% del total	8.9%	8.9%	8.9%	6.7%	33.3%
Gradilla 2	Recuento	8	8	8	6	30
	% del total	8.9%	8.9%	8.9%	6.7%	33.3%
Gradilla 3	Recuento	8	8	8	6	30
	% del total	8.9%	8.9%	8.9%	6.7%	33.3%
Total	Recuento	24	24	24	18	90
	% del total	26.7%	26.7%	26.7%	20.0%	100.0%



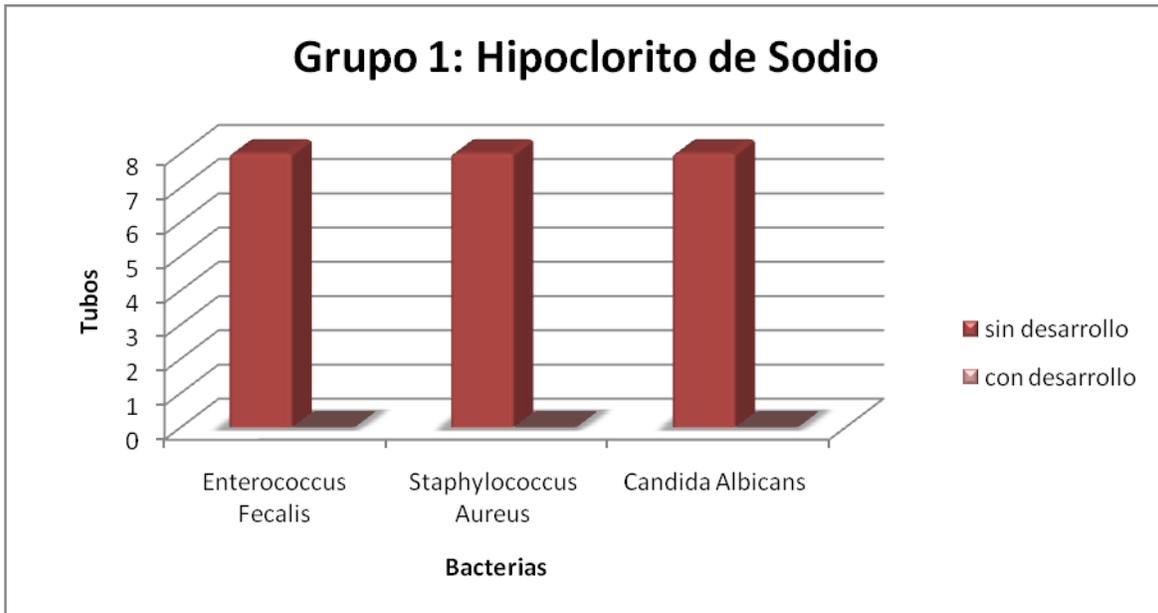
**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

8Se realizó una división de los tubos, de acuerdo a los resultados obtenidos en cada uno, en donde se mostró si existió o no desarrollo con cada una de las bacterias utilizadas para la inoculación, los resultados para cada uno de los grupos se encuentran representados en las siguientes tablas:

**Grupo 1: Hipoclorito de Sodio**

Recuento

		Resultados obtenidos al inocular con bacterias		Total
		sin desarrollo	con desarrollo	
Bacteria con la que se ha inoculado el tubo	Enterococcus Fecallis	8	0	8
	Staphylococcus Aureus	8	0	8
	Candida Albicans	8	0	8
Total		24	0	24



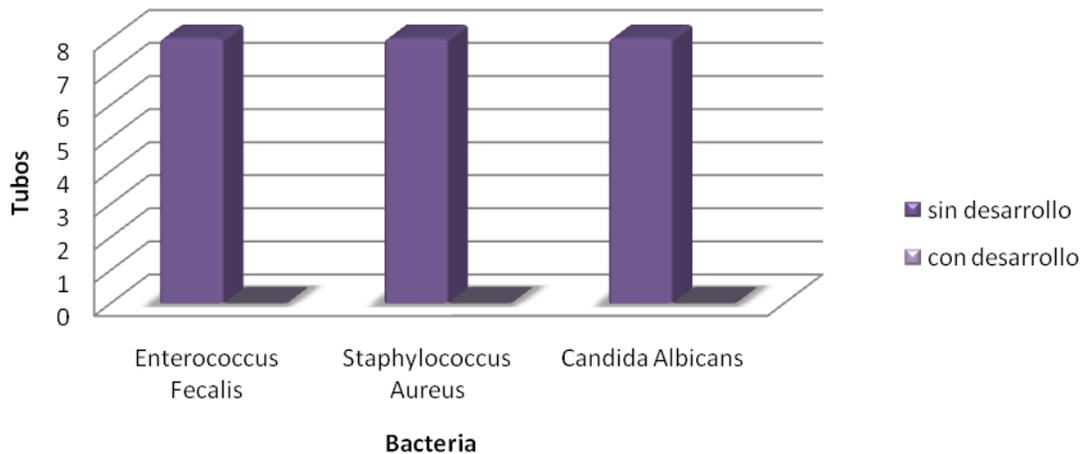
**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

**Grupo 2: Digluconato de Clorhexidina**

Recuento

		Resultados obtenidos al inocular con bacterias		Total
		sin crecimiento	con crecimiento	
Bacteria con la que se ha inoculado el tubo	Enterococcus Fecallis	8	0	8
	Staphylococcus Aureus	8	0	8
	Candida Albicans	8	0	8
Total		24	0	24

**Grupo 2: Digluconato de Clorhexidina**

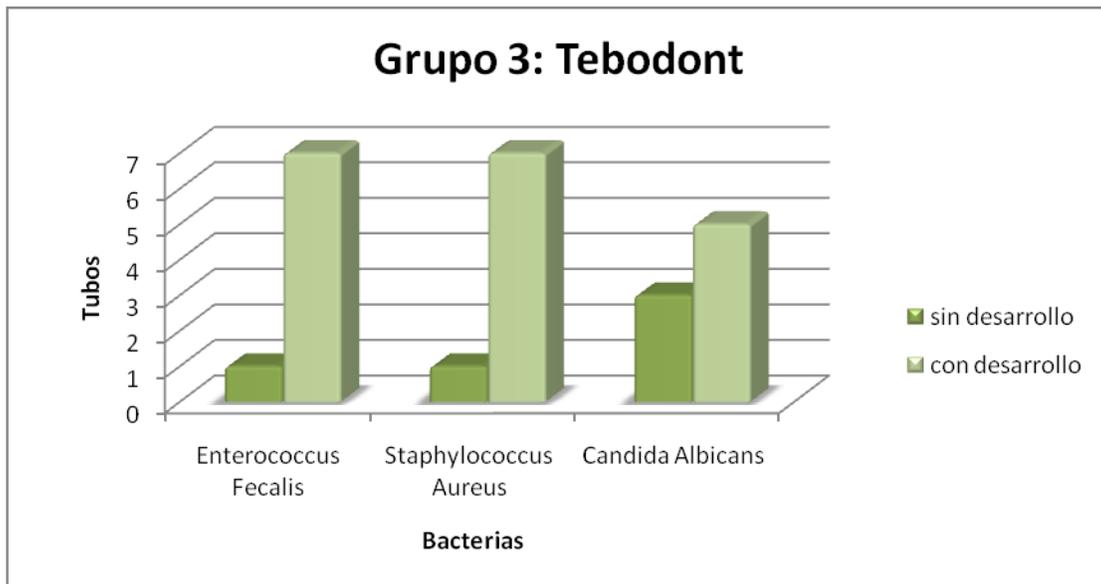


**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

**Grupo 3: Tebodont**

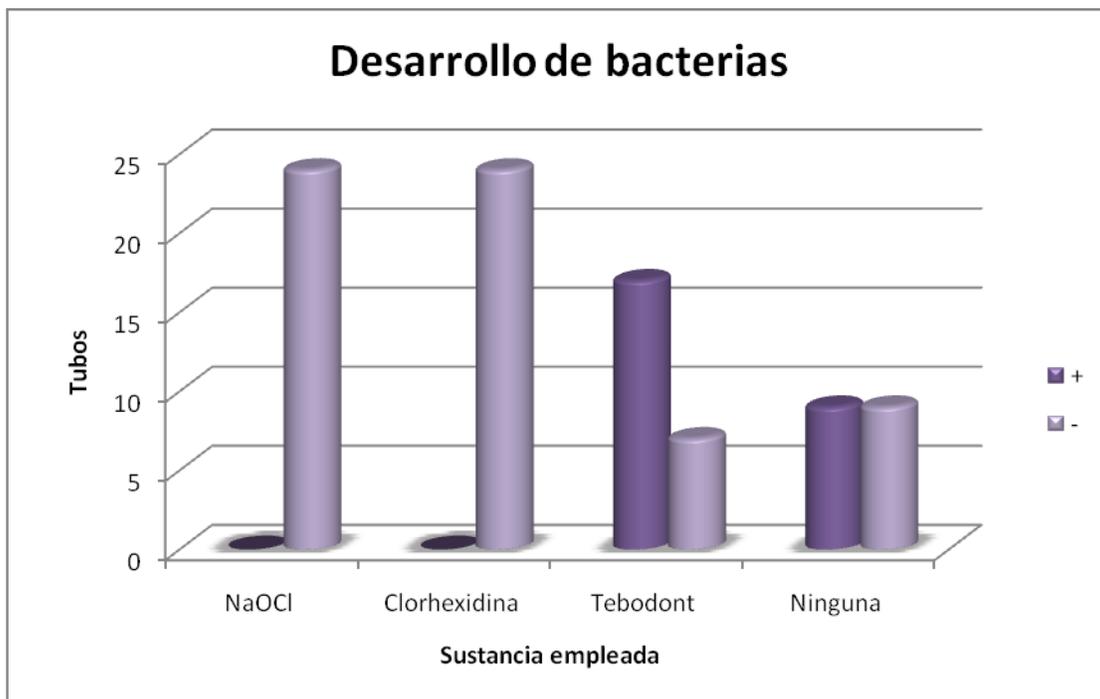
Recuento

		Resultados obtenidos al inocular con bacterias		Total
		sin desarrollo	con desarrollo	
Bacteria con la que se ha inoculado el tubo	Enterococcus Fecallis	1	7	8
	Staphylococcus Aureus	1	7	8
	Candida Albicans	3	5	8
Total		5	19	24



En la siguiente tabla se muestra el recuento del total de los tubos empleados y el desarrollo de bacterias en cada uno de acuerdo a la sustancia empleada y el porcentaje del total que cada uno representa:

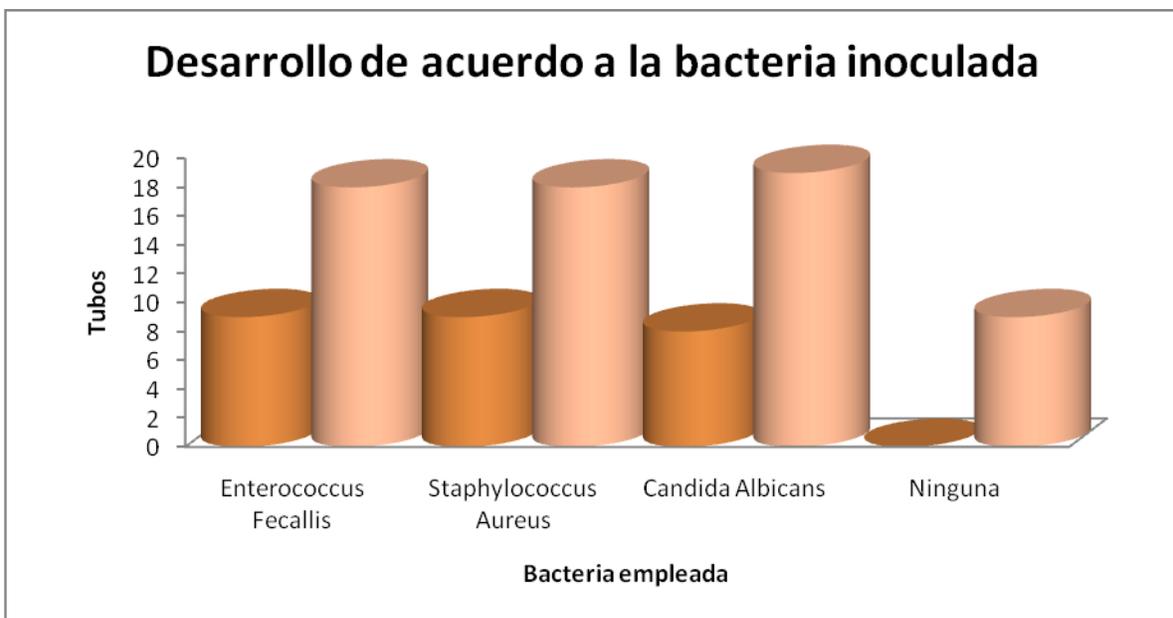
			Desarrollo		Total
			+	-	
Sustancia	NaOCl	Recuento	0	24	24
		% del total	.0%	26.7%	26.7%
	Clorhexidina	Recuento	0	24	24
		% del total	.0%	26.7%	26.7%
	Tebodont	Recuento	17	7	24
		% del total	18.9%	7.8%	26.7%
	Ninguna	Recuento	9	9	18
		% del total	10.0%	10.0%	20.0%
Total		Recuento	26	64	90
		% del total	28.9%	71.1%	100.0%



**Comparación de la efectividad bactericida de tres sustancias: Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina y Tebodont (Melaleuca Alternifolia) contra microorganismos responsables del fracaso en el tratamiento endodóntico**

En la tabla a continuación muestra el desarrollo de bacterias de acuerdo a la bacteria inoculada y el porcentaje que el desarrollo representa del total de 90 tubos.

			Desarrollo		Total
			+	-	
Bacteria Inoculada	Enterococcus Fecallis	Recuento	9	18	27
		% del total	10.0%	20.0%	30.0%
	Staphylococcus Aureus	Recuento	9	18	27
		% del total	10.0%	20.0%	30.0%
	Candida Albicans	Recuento	8	19	27
		% del total	8.9%	21.1%	30.0%
	Ninguna	Recuento	0	9	9
		% del total	.0%	10.0%	10.0%
Total		Recuento	26	64	90
		% del total	28.9%	71.1%	100.0%



## **ANÁLISIS DE RESULTADOS**

El Tebodont en su presentación en colutorio viene a una concentración del 1.5%, en este estudio pudimos observar la concentración mínima inhibitoria (CMI) que se requiere con cada una de las bacterias empleadas, en donde se estableció que la CMI quedó: 0.75% para *Enterococcus Fecalis*, 0.75% para *Staphylococcus Aureus* y 0.18% para *Candida Albicans*.

En el caso del Hipoclorito de Sodio, no se presentó desarrollo microbiológico en ninguno de los tubos que contenían al NaOCl en concentraciones del 0.05% y hasta el 6.5%.

En el caso del Digluconato de Clorhexidina, no se presentó desarrollo microbiológico en ninguno de los tubos que contenían a la Clorhexidina en concentraciones del 0.07% y hasta el 10%.

Se realizó una prueba estadística que consistió en una prueba de  $\chi^2$  con un alfa de 0.05, lo cual nos indica un nivel de confianza del 95%, a 2 grados de libertad, en donde el valor obtenido de  $\chi^2$  fue de 19.02 y en donde el valor de  $\chi^2$  en tablas es de 0.999925. Se concluye que la diferencia es significativa y por lo tanto se desacredita a la Hipótesis Nula.

## **DISCUSIÓN**

Según los resultados obtenidos dentro de la bibliografía consultada previamente para la realización de este estudio, la Melaleuca Alternifolia o aceite de árbol del té contenido como la sustancia activa de Tebodont tiene propiedades antisépticas y antifúngicas, en casos en donde dicho aceite esencial se ha utilizado en infecciones dermatológicas, el tratamiento de acné, pie de atleta, reacciones alérgicas en la piel, mal aliento, caspa, eliminación de placa dentobacteriana, gingivitis, infecciones oculares, infecciones genitales por Herpes, erradicación de piojos, infecciones persistentes por Staphylococcus aureus, candidiasis oral e infecciones vaginales, sin dejar de mencionar su uso como purificador de aire ya que este aceite es comercial con la finalidad de agregarse a nebulizadores.

A todo lo anterior, puedo ahora agregar que este aceite esencial, presente en Tebodont de manera comercial, es útil para la erradicación de bacterias persistentes en los conductos pulpares y que puede emplearse como irrigante durante el tratamiento endodóntico, sin quitar el mérito al Hipoclorito de sodio que es el irrigante por excelencia, pero que no es biocompatible. Sin embargo debemos tomar de cuenta que el uso de Tebodont como irrigante durante el tratamiento endodóntico debe ser directamente a la concentración contenida en el envase, ya que en casos en donde se utilizó a concentraciones más bajas no tuvo buenos resultados, aunque se haya logrado la ausencia de desarrollo de Enterococcus Fecallis que es el microorganismo con mayor presencia en el fracaso de los tratamientos pulpares.

Con lo que respecta al Hipoclorito de Sodio y a la Clorhexidina solo se confirma su efectividad como irrigantes durante el tratamiento endodóntico y que el Tebodont no es un sustituto de ninguna de las anteriores, sin embargo este es una opción más para utilizarse como irrigante, aunque considerando el costo que es muy similar al de la Clorhexidina solo que tenemos una opción en cuanto a pacientes que pudiesen ser hipersensibles a esta y una opción más en cuanto a la sustancia a emplear en el tratamiento de conductos.

## **CONCLUSIONES**

El Tebodont si tiene efectos bactericidas y antifúngicos solo en la concentración en la que se presenta contenido en su envase.

El Hipoclorito de Sodio sigue siendo el irrigante más eficaz durante el tratamiento de conductos y como se ha recomendado en una concentración del 2.5%, aunque en este estudio hayamos tenido inhibición desde el 0.05%.

El Digluconato de Clorhexidina es un irrigante eficaz durante el tratamiento endodóntico y además biocompatible en casos con fracturas y ápices abiertos, en una concentración recomendada del 0.2% y demostrada en este estudio su efectividad hasta en una concentración del 0.07%.

Se concluye que a pesar de la efectividad demostrada del Tebodont contra el Hipoclorito de Sodio y el Digluconato de Clorhexidina, el Hipoclorito de Sodio sigue siendo el irrigante por excelencia ya que el costo de Tebodont es igual o mayor que el de la Clorhexidina, sin embargo es una opción como agente irrigante en casos en donde existen ápices abiertos, fracturas y en pacientes que puedan resultar hipersensibles al Digluconato de Clorhexidina.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Glickman and Koch. 21ST-CENTURY ENDODONTICS. J Am Dent Assoc 131;39S-46S, 2000.
2. Cohen S. Et. Al. Vías de la Pulpa, 1999. Octava edición. Mosby.
3. Grossman Et. Al. Solution of pulp tissue by chemical agents. J Am Dent Assoc 1941, 2:223-225. Ref. en Leonardo MR. Tratamiento de conductos radiculares. Buenos Aires Argentina. Edit. Médica Panamericana 1994: 246-265.
4. Siqueira J. Et. Al. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. Int Endod J. 1999. 32: 361-369.
5. Baumgartner, Jc. A scanning electron microscopic evaluation of four root cannal irrigation regimens. J of Endodontics. 1987, 13:147.
6. Vademécum, 2010.
7. Johnson B. Et. Al. Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. 1993. J of Endod. 19(1): 40-43.
8. Sadr L. Et. Al. The effect of German chamomile (*Marticaria recutita* L.) extract and tea tree (*Melaleuca alternifolia* L.) oil used as irrigants on removal of smear layer: a scanning electron microscopy study. International Endodontic Journal. 39:190-195, 2006.
9. Lasala A. Endodoncia. 4ta. Edición. Editorial Salvat. México 1992.
10. Ryan KJ; Ray CG (editors) (2004). Sherris Medical Microbiology (4th ed. edición). McGraw Hill.
11. Stuart CH. Et. Al. Enterococcus fecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. JOE, 2006. Vol. 32. No. 2.
12. Sadley C. Et. Al. Real time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of enterococcus fecalis in root canals. JOE 2006. Vol. 32 No. 3.
13. Dong MD. Et. Al. Influence of streptococcus mutans on enterococcus fecalis biofilm formation. JOE 2009. Vol. 35 No. 9.
14. Liu H. Et. Al. Biofilm Formation Capability of Enterococcus facalis Cells in Starvation Phase and Its Susceptibility to Sodium Hypochlorite. JOE 2010. Vol. 36 No. 4.
15. Arias-Moliz MT. Et. Al. Enterococcus fecalis biofilms eradication by root canal irrigants. JOE 2009. Vol. 35 No. 5.
16. Robbins, Stanley L. Et. Al. Patología estructural y funcional 5ª. Edición. Mc Grow Hill Interamericana. 1995; 343, 394-395.
17. Sen BH. Et. Al. Antifungal Effects of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine in Root Canals. JOE 1999; Vol. 25 No. 4

18. Siqueira JF. Et. Al. Elimination of *Candida albicans* Infection of the Radicular Dentin by Intracanal Medications. JOE 2003; Vol. 29 No. 8.
19. Siqueira JF. Et. Al. Fungal infection of the radicular dentin. JOE 2002; Vol. 28 No. 11.
20. Bamgartner JC. Et. Al. Occurrence of candida Albicans in infections of endodontic origin. JOE 2000; Vol. 26 No. 12.
21. Waltimo TMT. Et. Al. Clinical aspects related to endodontic yeast infections. Endodontic Topics 2004, 9, 66–78
22. Waltimo TMT. Et. Al. Susceptibility of oral candida species to calcium hydroxide in vitro. International Endodontic Journal 1999. 2, 94-98.
23. Waltimo TMT. Et. Al. Fungi in therapy resistant apical periodontitis. International Endodontic Journal 1997. 30, 96-101.
24. Waltimo TMT. Et. Al. Examination on Candida spp. In refractory periapical granulomas. International Endodontic Journal 2003. 36, 643-647.
25. Peciulienė Et. Al. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J 2001;34:429–34.
26. Ruff ML. Et. Al. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. JOE 2006; Vol. 32 No. 4.
27. Al-Hezaimi, K. Et. Al. Effect of White-Colored Mineral Trioxide Aggregate in Different Concentrations on Candida Albicans In Vitro. JOE 2005; Vol 31 No. 9
28. Shalini SB. Et. Al. Biological Activity of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil Component, Terpinen-4-ol, in Human Myelocytic Cell Line HL-60. Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics 22 (7) ,1999.
29. Gustafson JE. Et. Al. Effects of tea oil in Escherichia coli. Lett Appl Microbiol 26:194-198, 1998.
30. Cox SD. Et. Al. The mode of antimicrobial action of essential oil of Melaleuca Alternifolia (tea tree oil). J. Appl Microbiol 88: 170-175, 2000.
31. Mann Et. Al. The outer membrane of Pseudomonas Aeruginosa NCTC 6749 contributes to its tolerance to essential oil of Melaleuca Alternifolia (tea tree oil). Lett Appl. Microbiol 30: 294-297, 2000.
32. Saller R. Et. Al. Teebaumöl. Ein Natürliches Universalheilmittel? Dtsch Apothekerzeitung, 135. Jahrg. Nr. 35, 1995.
33. Carson CF. Et. Al. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil Melaleuca Alternifolia (tea tree oil). J. Appl Bacteriol 78: 264-269, 1995.
34. Hammer KA. Et. Al. In vitro activities of Ketoconazole, Econazole, Miconazole and Melaleuca Alternifolia against Malassezia species. Antimicrobial Agents Chemother. 44: 467-469, 2000.
35. Maudsley F. Et. Al. Microbiological safety of essential oils using in complementary therapies and the activity of these compounds against bacterial and fungal pathogens. Support Care Center 7: 100-102, 1999.

36. Saxer UP. Et. Al. Wirkung einer mundspülung mit Teebaumöl auf plaque und Entzündung. Schweiz. Monatsschr Zahnmed 113: 9, 2003.
37. Palombo EA. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity Against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. eCAM 2009; 1 of 15 doi:10.1093/ecam/nep067.
38. Catalán A. Et. Al. In vitro and in vivo activity of melaleuca alternifolia mixed with tissue conditioner on Candida Albicans. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 105:327-32, 2008.
39. Carson Et. Al. Efficacy and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent. Journal of Hospital Infection 40: 175-178, 1998.
40. Kwiecinski J. Et. Al. Effects of tea tree (Melaleuca alternifolia) oil on Staphylococcus aureus in biofilms and stationary growth phase. International Journal of Antimicrobial Agents 33: 343–347, 2009.
41. Vazquez JA. Et. Al. Efficacy of Alcohol-Based and Alcohol-Free Melaleuca Oral Solution for the Treatment of Fluconazole-Refractory Oropharyngeal Candidiasis in Patients with AIDS. HIV Clin Trials 3(4):379–385, 2002.