



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD LEÓN

TÍTULO:

“Matriz degradable de PVA/CHX para uso odontológico”

FORMA DE TITULACIÓN:

Tesis

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

ARMENTA SALAZAR MARÍA GUADALUPE

TUTOR: Dra. Laura Susana Acosta Torres

ASESOR: Mtro. Jacinto Armando Díaz Acevedo

ASESORA: Ing. María Guadalupe Luévano Colmenero

LEON, GTO. 2016.





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.

**El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Investigaciones Interdisciplinarias, en el área de Nanoestructuras y Biomateriales de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad León. Universidad Nacional Autónoma de México. Bajo la dirección de la Dra. Laura Susana Acosta Torres, la asesoría de la IBQ. Guadalupe Hortensia Luévano Colmenero y de la Dra. Liliana Argueta Figueroa.**

## **Agradecimientos**

**A la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad León** por mi formación académica durante los 4 años de licenciatura en Odontología.

**Este trabajo fue financiado por los Proyectos (DGAPA-UNAM) PAPIIT- IN225516 PAPIIT- IA204516; PAPIME-PE210616 y PE-201617.**

**Al Laboratorio Interdisciplinario de investigación, en el área de biomateriales** por permitirme realizar mis pruebas de investigación y proporcionarme los recursos necesarios.

**A la Dra. Laura Susana Acosta Torres** por sus correcciones, disponibilidad, paciencia y confianza desde el primer día de trabajo.

**Al Mtro. Jacinto Armando Díaz Acevedo y Dr. Ángel Lonato Ponce** por su asesoría y correcciones realizadas del trabajo.

**A la Dra. Ma. Concepción Arenas Arrocena** por su apoyo durante mi estancia en el laboratorio, así como sus sugerencias y correcciones de este trabajo.

**A la Ing. María Guadalupe Luévano Colmenero** por su asesoría y disponibilidad durante mi estancia en el Instituto Politécnico Nacional Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato.

**A la Dra. Liliana Argueta Figueroa y el Dr. René García Contreras** por todos sus conocimientos transmitidos, sugerencias y colaboración en el presente trabajo.

**A mis compañero del laboratorio** por su valiosa colaboración.

## Dedicatoria

A **Dios** que para mí representa lo más importante, pues es el quien me posiciona en el lugar perfecto para ser y tener lo que hasta ahora tengo.

A **mi madre** que gracias a ella puedo seguir elaborando más proyectos y logrando poco a poco cada uno de mis objetivos, siempre con la seguridad de que ella está apoyándome de forma incondicional.

A **mi hermana** de quien a pesar de ser menor que yo, siempre aprendo algo nuevo, quien además de apoyarme, siempre me reta a ser mejor, a dar más y a conseguir todo lo que me propongo.

A **mis amigos** porque cada uno ha contribuido en mi crecimiento personal, porque me confortan siempre que lo necesito e incluso a algunos les toca sostenerme cuando he sentido que casi desvanezco.

A **mis compañeros y doctores del laboratorio** porque ellos hicieron que este trabajo resultara más llevadero, porque sí, es cierto que se trata de un trabajo serio y con mucha responsabilidad, también es necesario un toque de diversión.

# Índice

1. Resumen.....	7
2. Introducción.....	8
3. Antecedentes.....	10
4. Marco teórico.....	12
4.1. Clasificación de bacterias de la cavidad bucal.....	12
4.2. Características de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
4.3. Características <i>Escherichia Coli</i> .....	15
4.4. Características <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	16
4.5. Antisépticos y desinfectantes.....	17
4.6. Características de la clorhexidina.....	17
4.6.1. Propiedades de la clorhexidina.....	18
4.6.2. Efecto bacteriostático y bactericidad de la clorhexidina.....	19
4.6.3. Usos de la clorhexidina.....	23
4.7. Membranas.....	25
4.7.1. Clasificación de las membranas.....	26
4.8. Alcohol polivinílico.....	27
4.8.1. Propiedades del alcohol polivinílico.....	27
4.8.2. Obtención de alcohol polivinílico.....	28
4.8.3. Nombres comerciales del alcohol polivinílico.....	28
4.8.4. Usos del alcohol polivinílico en medicina.....	28
4.9. Métodos de preservación de muestras.....	29
4.10. Proceso de liofilización.....	30
4.10.1. Beneficios de la liofilización.....	30
4.10.2. Etapas del proceso de liofilización.....	31
5. Planteamiento del problema.....	34
6. Pregunta de investigación.....	35
7. Justificación.....	36
8. Objetivo general.....	37
9. Objetivos específicos.....	38
10. Hipótesis.....	39
11. Metodología.....	40
11.1. Tipo de estudio.....	41
11.2. Variables dependientes.....	41
11.3. Variables independientes.....	41
11.4. Criterio de inclusión.....	41
11.5. Criterios de no inclusión.....	41
11.6. Criterios de eliminación.....	41
11.7. Universo.....	41
11.8. Muestra.....	41
11.9. Tipo de muestreo.....	41
11.10. Material y equipo.....	41
11.11. Reactivos.....	42

11.12.	Importancia del medio de cultivo .....	42
11.13.	Método .....	42
11.13.1.	Preparación del medio de cultivo .....	42
11.13.2.	Preparación del inóculo .....	43
11.13.3.	Inoculación de las placas.....	43
11.13.4.	Preparación de muestras alcohol polivinílico-clorhexidina .....	43
11.13.5.	Liofilización de muestras alcohol polivinílico/clorhexidina .....	45
11.13.6.	Aplicación de los discos a las placas inoculadas .....	48
11.13.7.	Prueba de degradación .....	49
12.	Resultados .....	50
12.1.	Lectura de las placas .....	50
12.2.	Estadísticos descriptivos. ....	51
12.3.	Estadísticos inferenciales .....	55
12.3.1.	Kruskal-Wallis .....	55
12.4.	Pruebas de normalidad .....	56
12.4.1.	Mann-Whitney .....	57
12.4.2.	Shapiro-Wilk .....	64
12.5.	Análisis de degradación.....	66
12.5.1.	Pesos iniciales y finales .....	66
12.5.2.	Graficas de residuos para absorbancia .....	68
12.5.3.	Estadísticos inferenciales.....	69
13.	Implicaciones bioéticas.....	70
14.	Discusión .....	70
15.	Conclusión .....	72
16.	Bibliografía .....	73

## 1. Resumen

Las infecciones odontogénicas son una de las principales causas de consulta en la práctica odontológica. Estas afectan a individuos de todas las edades. Existen diferentes medicamentos para su tratamiento, donde el gluconato de clorhexidina, mejor conocido con el nombre de clorhexidina (CHX), es uno de los antimicrobianos más utilizados para la irrigación de las zonas afectadas. Su utilidad es amplia en infecciones bucales, como medicamento de acción local.

Por lo anterior mencionado el propósito de la investigación es elaborar una matriz de CHX que tenga como estructura de soporte alcohol polivinílico (PVA), la cual inhiba el crecimiento microbiano y sea biocompatible para posibles aplicaciones odontológicas y quirúrgicas. Obtendremos estas matrices mediante un proceso de liofilización, el cual consiste en congelar las muestras a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  durante 24 hrs, con las cuales posteriormente se realizarán pruebas microbiológicas con *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia Coli* (*E. coli*) y *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aureginosa*) para medir la zona de inhibición en estas bacterias que son comunes en la cavidad bucal y que están presentes en infección, posteriormente se llevarán a cabo pruebas de degradación para evaluar su tiempo que tarda en reabsorberse la matriz de CHX/PVA.

Se obtuvo un promedio de las zonas de inhibición de 14.8690 mm para el caso de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), 14.5865 mm para *Escherichia Coli* (*E. coli*) y 13.2784 mm para *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aureginosa*).

De manera independiente analizamos el tiempo de degradación para cada una de las matrices de CHX/PVA en sus distintas concentraciones, las cuales lograron degradarse en saliva artificial, obteniendo un promedio de 68.54% de degradación en un periodo de siete días.

## 2. Introducción

Las infecciones odontogénicas son una de las principales causas de consulta en la práctica odontológica. Estas afectan a individuos de todas las edades. Existen diferentes medicamentos para su tratamiento, donde la CHX es uno de los antimicrobianos más utilizados para la irrigación de las zonas afectadas por su función antiséptica, teniendo en cuenta sus diferentes concentraciones y propiedades químicas; su utilización es amplia, tal es el caso de infecciones bucales producidas por roces de las prótesis dentales, prevención de caries, apoyo en el tratamiento periodontal, sustancia irrigadora durante tratamientos radiculares, desinfectante de cavidades previas a la obturación y en el área de cirugía como medicamento de acción local.<sup>1</sup>

No se ha descrito toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingestión, ni hay evidencias de teratógena en el modelo animal. Tampoco se ha observado resistencia bacteriana, ni en los casos de uso prolongado en boca, ni hubo evidencias de sobreinfección por hongos, levaduras o virus. El uso prolongado en boca produce un leve desplazamiento de la flora hacia microorganismos menos sensibles, pero se revirtió rápidamente a la situación inicial al término del estudio de dos años.<sup>2</sup>

Su efecto adverso más común es la pigmentación marrón de los dientes, de algunos materiales de restauración y de las mucosas, sobre todo del dorso de la lengua. La causa por la que la CHX produce tinción no es del todo clara. Lo que sí parece claro es que se produce una interacción entre la molécula que por un grupo catiónico está unida a la superficie del diente y por el otro grupo en vez de unirse a bacterias, se une a sustancias dietéticas ricas en taninos, produciéndose una pigmentación; así productos como el té, el vino tinto o el café potencian la pigmentación. Otro efecto secundario descrito frecuentemente es la alteración del gusto, que podría reducirse evitando enjuagarse con agua después de la aplicación de CHX.<sup>4</sup>

Un estudio de Straub y colaboradores en el 2001, concluye que el alcohol de los colutorios de CHX produce una mayor alteración del gusto que los colutorios en solución no alcohólica.

También se han descrito lesiones descamativas en la mucosa alveolar después de colutorios al 0.2%.<sup>2</sup>

Por lo anterior mencionado el propósito de la investigación es elaborar una matriz de CHX/PVA que inhiba el crecimiento microbiano y sea biocompatible para una posible aplicación quirúrgica y otras indicaciones odontológicas. Se obtendrán estas matrices mediante un proceso de liofilización, el cual consiste en congelar las muestras a una temperatura de -80 °C durante 24 hrs, con las cuales posteriormente realizaremos pruebas microbiológicas para medir su zona de inhibición ante bacterias como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia Coli* (*E. coli*) y *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*).

### 3. Antecedentes

La CHX fue introducida por primera vez en el Reino Unido como un antiséptico y desinfectante en 1954, ese mismo año, “El Imperial Chemical Industries, Limited” publicó un artículo sobre un nuevo antimicrobiano en investigación, en el cual se explica lo promisorio de la CHX.<sup>5</sup>

En 1970 se demuestra que el lavado de manos con CHX disminuye la flora de microorganismos de un 86 % a 92 %. La CHX es introducida por primera vez en los EUA.

En el año 1976 por primera vez se emplea CHX como agente oral. Se demuestra su habilidad para inhibir la formación y el desarrollo de la biopelícula. Hasta la fecha es el antiséptico más efectivo y seguro en la inhibición de la biopelícula dental, se indica su uso en la población general en grupos de pacientes de alto riesgo.<sup>6</sup>

La Food and Drugs Administration (FDA) autoriza el primer lubricante urológico con CHX en 1981. En 1988 se lanza en EUA la primera preparación para la piel de CHX y alcohol. Para 1992 deviene comercialmente disponible el primer catéter de acceso vascular con CHX, el cual es impregnado con CHX y sulfadiazina de plata.<sup>1,4</sup>

En 1993 la FDA autoriza el primer apósito-esponja de CHX. En 2001 la CHX es agregada a un paquete de ventilación con elementos de cuidado bucal.

En 2005 la FDA autoriza un paño con CHX al 2% para preparación preoperatoria. En 2010 los primeros conectores impregnados con CHX sin aguja son autorizados por la FDA. Ese mismo año, se autorizan como catéteres antimicrobianos los primeros Catéteres Centrales Insertados Periféricamente (CCIP) con CHX. Finalmente en 2012 la FDA autoriza los primeros CCIP con CHX como catéter antitrombogénico en suma a su indicación antimicrobiana.<sup>7</sup>

Por su parte, el PVA se obtuvo por primera vez en 1924 por Hermann y Haehnel mediante un proceso de hidrólisis del acetato de polivinilo.<sup>8</sup>

El PVA se clasifica en dos clases: parcialmente hidrolizado y totalmente hidrolizado. La FDA así como la comisión de plásticos de las autoridades de Alemania, presentaron ciertos tipos de PVA como coadyuvante alimentario, pero en normas precisas de utilización. Recientemente la Autoridad Europea para seguridad de los alimentos (EFSA, de sus siglas

en inglés) publicó los resultados de un panel de expertos sobre el uso del PVA en forma oral, concluyendo que éste se absorbe mínimamente, que presenta baja toxicidad, que está documentado en estudios toxicológicos incluyendo un estudio de 90 días y uno de toxicidad reproductiva en ratas, concluyendo que no es mutagénico, ni genotóxico.<sup>9</sup>

## 4. Marco teórico

### 4.1. Clasificación de bacterias de la cavidad bucal

Dentro de la cavidad bucal existe una gran cantidad de bacterias, las cuales se colocaran en su grupo correspondiente de acuerdo a su forma de respiración: <sup>10,11.</sup>

<b>Bacterias aerobias</b>	<b>Bacterias anaerobias</b>
Streptococcus grupo A	<i>Peptostreptococcus spp</i>
Streptococcus spp	<i>Actinomices spp</i>
Staphylococcus spp (s.aureus)	<i>Prevotella spp</i>
Capnocytophaga spp	<i>Porphyromonas spp</i>
Eikenella spp	<i>Fusobacterium spp</i>
	<i>Bacteroides spp</i>

Bacterias aerobias y anerobias de la cavidad bucal. <sup>2</sup>

Dentro de estos grupos existen bacterias patógenas para el ser humano. Algunas de las enfermedades que se pueden llegar a presentar en la cavidad bucal a causa de estas son:

<b>Proceso infeccioso</b>	<b>Bacterias predominantes</b>
<i>Caries</i>	<i>Streptococcus mutans</i> <i>Actinomices spp</i> <i>Lactobacillus spp</i>
<i>Gingivitis</i>	<i>Campylobacter rectus</i> <i>Actinomices spp</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Periodontitis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Bacteroides forsythus</i>

	<i>Actinobacillus actinomycentemcomitans</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Absceso periapical</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i> <i>Prevotella oralis</i> <i>Prevotella melaninogenica</i> <i>Streptococcus anginosus</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Pericoronitis</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Fusobacterium spp</i>
<i>Periimplantitis</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Staphylococcus spp</i>
<i>Pulpitis</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i> <i>Porphyromonas endodontalis</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Prevotella melaninogenica</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Meningitis</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

Bacterias predominantes en los procesos infecciosos. <sup>2</sup>

#### 4.2. Características de *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram (+), con un diámetro de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Ogston introdujo el nombre de *Staphylococcus*, del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas.<sup>12</sup>



Imagen 1. Muestra de *S. aureus*.  
Fuente propia.

En los medios de cultivo tradicionales la mayoría de las especies crecen después de incubarse durante 18-24 horas, formando colonias con un diámetro de 0.5 -1.5 mm. Las colonias de *S. aureus* se observan lisas, elevadas y brillantes.

Presentan consistencia cremosa y pigmentación que va del amarillo al dorado debido a la producción de carotenoides.

La mayoría de las cepas producen  $\beta$ -hemólisis o hemólisis total alrededor de las colonias cuando se cultivan en agar sangre. *S. aureus* crece bien en medios de cultivos no selectivos, como el agar sangre, agar chocolate, cerebro corazón infusión agar (BHI, por sus siglas en inglés) y medios líquidos para hemocultivo donde se recupera fácilmente. El medio recomendable y usado por la mayoría de los laboratorios es el agar sal manitol o medio de Chapman por su elevado contenido de sal que inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram (-). Este medio permite realizar la identificación presuntiva de *S. aureus* por la pigmentación amarilla característica de *S. aureus*. Debido a que esta bacteria fermenta el manitol se genera un cambio de color en el medio que vira de rojo pálido a amarillo. Otros medios utilizados para el aislamiento de *S. aureus* son el agar sangre suplementado con colistina y el ácido nalidíxico y agar feniletanol que también inhibe el crecimiento de las bacterias Gram (-). En la actualidad se han desarrollado medios de cultivo que contiene agar

base cromogénico específico para la detección de *S. aureus* resistentes a la meticilina de muestras clínicas; en presencia de enzimas específicas, los sustratos son modificados y los cromógenos tiñen específicamente las colonias, permitiendo realizar la identificación directa de *S. aureus*.<sup>12</sup>

### 4.3. Características *Escherichia Coli*

Por su lado, *Escherichia coli* (*E. coli*), se trata de un bacilo gram (-), anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu Escherichia. Esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea.<sup>13</sup>



Imagen 2. Muestra de *E. coli*  
Fuente propia

Para el aislamiento, la identificación y la caracterización de cepas de *E. coli* se aplican métodos tradicionales, métodos *in vivo* e *in vitro* y de biología molecular. El método tradicional es el aislamiento de la bacteria, después se siembra con la punta del hisopo en la parte superior de una placa de agar Mac Conkey u otro medio selectivo y con una asa redonda de nicromel, se continúa el aislamiento, sembrando por estría cruzada; después se incuba a 37 °C durante 18 a 24 h. Posteriormente se seleccionan de 5 a 10 colonias típicas de *E. coli*.<sup>13</sup>

#### 4.4. Características *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) es un bacilo Gram (-) aerobio, considerado un patógeno oportunista. Es un microorganismo altamente versátil, capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno. Puede sobrevivir con bajos niveles de nutrientes y crecer en rangos de temperatura de 4 °C a 42 °C. Estas características le permiten adherirse, sobrevivir en equipos médicos y en otras superficies hospitalarias. *P. aeruginosa* puede causar bacteriemias, neumonías, infecciones del tracto



Imagen 3. Muestra de *P. aeruginosa*  
Fuente propia.

urinario, así como una alta morbilidad y mortalidad en pacientes con fibrosis quística, debido a las infecciones crónicas que eventualmente conducen a un daño a nivel pulmonar e insuficiencia respiratoria. Las infecciones por *P. aeruginosa* son difíciles de erradicar debido a su elevada resistencia intrínseca, además de su capacidad para adquirir resistencia a diversos antibióticos.<sup>14</sup>

#### **4.5. Antisépticos y desinfectantes**

Biocida: Agente químico, usualmente de amplio espectro que inactiva microorganismos. <sup>15</sup>

Antibiótico: Sustancia química derivada de varias especies de microorganismos o sintetizada químicamente que tiene la capacidad de actuar selectivamente e inhibir el crecimiento o producir la destrucción del microorganismo, generalmente a bajas concentraciones. <sup>16</sup>

Antiséptico: Biocidas o sustancias químicas que se aplican sobre los tejidos vivos, con la finalidad de destruir o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos con baja toxicidad sobre las células huésped por lo que pueden utilizarse directamente sobre mucosas, piel y heridas. <sup>17</sup>

Desinfectante: Agente químico que se aplica sobre superficies o materiales inertes o inanimados, para destruir los microorganismos y prevenir las infecciones. <sup>18</sup>

Antimicrobiano: Son sustancias químicas que tienen la capacidad de actuar sobre el desarrollo y crecimiento de microorganismos patógenos. Estos pueden variar por sus acción sobre microorganismos específicos en; antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios, antivirales. <sup>19</sup>

#### **4.6. Características de la clorhexidina**

Existen diferentes medicamentos como tratamiento para todos los procesos patológicos mencionados, donde la CHX es uno de los antisépticos más utilizados para las necesidades odontológicas en base a sus diversas concentraciones, puede tener la capacidad de funcionar como antiséptico y en concentraciones más altas como desinfectante. Hoy en día la utilidad de la CHX es amplia en odontología desde colutorios antisépticos en el tratamiento de infecciones bucales, lesiones y úlceras por irritación, en la prevención de caries, en la resolución de padecimientos en los tejidos del soporte dental y tratamiento de enfermedad periodontal, sustancia antiséptica durante la irrigación en el tratamiento de

conductos radiculares, como solución antiséptica local en el tratamiento de infecciones odontogénicas.<sup>1</sup>

#### 4.6.1. Propiedades de la clorhexidina

La CHX es una molécula anfipática con grupos hidrófilos e hidrófobos, que a pH fisiológico tiene carácter catiónico. Estructuralmente está constituida por 2 anillos clorofenólicos simétricos (4-clorofenil) y 2 grupos biguanidas, unidos a través de una cadena central hidrofóbica de hexametileno, el resultado es una molécula bicatiónica simétrica que se denomina 1,6-bis-4-cloro-fenildiguanidohexano.<sup>2</sup>

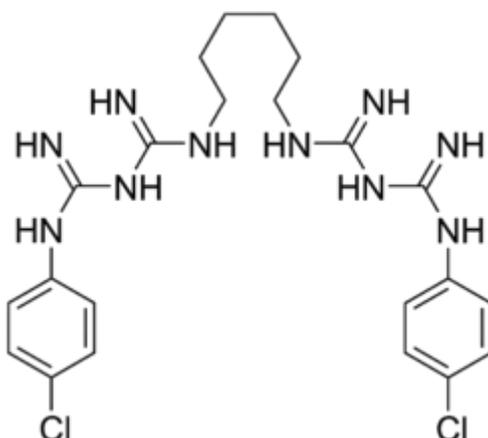


Figura 1. Estructura química de CHX

La CHX es una base fuerte dicatiónica, estable a un pH entre 5 y 8, aunque el óptimo está comprendido entre 5.5 y 7. En consecuencia, el pH del medio oral afecta significativamente a la unión de la CHG con las superficies dentarias y gingivales. También se ha demostrado que su permanencia en la boca es mucho menor cuando el pH del colutorio empleado es muy ácido (1.5-3), comparada con la de soluciones neutras o alcalinas. Sin embargo, el aumento del pH no conlleva un incremento proporcional de la retención de la CHX. Además, su actividad frente a bacterias Gram (+), Gram (-) y levaduras es superior cuando el pH se sitúa en un rango cinco a ocho.<sup>3</sup>

La CHX es fotolítica, por lo que debe protegerse de la exposición a la luz. Aunque es estable a temperatura ambiente, también es termolábil y con el calor se descompone en cloroanilina un compuesto altamente contaminante y con propiedades mutágenas; el almacenaje prolongado favorece la producción de anilinas. Las autoridades sanitarias europeas establecieron como valor máximo permitido de cloroanilina, 500 ppm en preparados de CHX destinados a uso humano y la mayoría de las soluciones disponibles en el mercado sólo tienen 5 ppm aproximadamente, por lo que conservan un amplio margen de seguridad. Experimentalmente, después de almacenar muestras de CHX durante seis meses a 40 °C, no se consiguió alcanzar esa concentración límite de cloroanilinas. En cualquier caso, se recomienda conservar este antiséptico en un ambiente frío, oscuro, y reponerlo con cierta frecuencia.<sup>2,3.</sup>

#### **4.6.2. Efecto bacteriostático y bactericidad de la clorhexidina**

La CHX es un antiséptico de amplio espectro, bactericida y fungicida. Aunque no se considera un viricida, tiene cierta actividad sobre los virus con cubierta lipídica, como VIH, Herpes 1 y 2 e Influenza A. Tampoco es esporicida, ni elimina las bacterias ácido-alcohol resistente, pero puede inhibir el crecimiento de las esporas y tiene efecto bacteriostático sobre alguna micro bacteria. Es más efectiva frente a bacterias Gram (+) que frente a bacterias Gram (-), como consecuencia de las características estructurales de la membrana externa de éstas últimas. *In vitro* tiene efectividad frente a bacterias Gram (-) y bacterias Gram (+) incluyendo aerobios y anaerobios e incluso hongos y levaduras.<sup>20</sup>

**Tabla 1.** Niveles susceptibilidad de distintos microorganismos a la clorhexidina

<b>Microorganismo</b>	<b>Susceptibilidad</b>
<i>Staphylococcus spp</i>	++
<i>Streptococcus mutans</i>	++
<i>Streptococcus salivarius</i>	++
<i>Eschechia coli</i>	++
<i>S pyogenes</i>	++
<i>S sobrinus</i>	++
<i>Streptococcus sanquis</i>	++
<i>Proteus spp</i>	+
<i>Pseudomona spp</i>	+
<i>Klebsiella spp</i>	+
<i>Propionibacterium spp</i>	+++
<i>Selenomas spp</i>	+++
<i>Veillonella spp</i>	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++
<i>Pseudomonas aeroginosa</i>	-

+++ Alta susceptibilidad, ++ Mediana susceptibilidad, + Baja susceptibilidad, - Resistencia.<sup>28</sup>

Sreenivasan y Gittins en un estudio realizado en el año 2004 analizaron los niveles de microorganismos detectables en saliva y en la lengua tres horas después de haber realizado un único enjuague con CHG al 0.12% y demostraron que este antiséptico posee un amplio espectro de acción antibacteriana en ambas localizaciones.<sup>29</sup>

**Tabla 2.** Acción antibacteriana de clorhexidina en porcentaje

<b>Saliva</b>		<b>Lengua</b>	
<i>Microorganismos</i>	%	<i>Microorganismos</i>	%
<i>Bacterias Gram (+)</i>	95	Anaerobios	90
<i>Bacterias Gram (-)</i>	89	Gram (+)	89
<i>Bacterias proteolíticas</i>	91	Gram (-)	90
<i>Bacterias productoras H<sub>2</sub>S</i>	94	Bacterias proteolíticas	81
		Bacterias productoras H <sub>2</sub> S	94

Acción antibacteriana de la clorhexidina en microorganismos presentes en lengua y saliva. <sup>2</sup>

Considerablemente el recuento total de bacterias en saliva; *Actinomyces spp.* Era el género más sensible, mientras que la concentración de *Bacteroides forsythus*, *porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola* solo se modificaba mínimamente.<sup>29</sup>

Do Amorin en 2004 realizó un estudio para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de la CHX frente a diferentes microorganismos aislados en los conductos radiculares, para evaluar la sustantividad de la CHX sobre la flora salival mediante microscopia de epifluorescencia.<sup>21</sup>

*Pseudomonas aeruginosa* resulto el microorganismo menos susceptible, con una CMI de 80 µl/ml, siendo este valor aproximadamente 30 veces superior a los requeridos para *Prevotella denticola* y *Escherichia coli*, que presentaron los valores más bajos (CMI 2.67 µg/ml). La CMI de los *anaerobios estrictos Gram (-)* como *Prevotella intermedia*, *Pophyomonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis* y *Prevotella melaninogenica* fue de 3.40 µg/ml.

Goldstein y col. en 2004 evaluaron la actividad *in vitro* de la clorhexidina al 0.12% frente a 322 microorganismos periodontopatogenos anaerobios.<sup>22</sup>

**Tabla 3.** Cantidad mínima inhibitoria de clorhexidina para los distintos patógenos anaerobios.

<i>Bacteria</i>	<i>CMI</i>
<i>Eubacterium yurii</i>	60 µg/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	60 µg/ml
<i>Colinsela aerofaciens</i>	30 µg/ml
<i>Eikenella corrodens</i>	30 µg/ml
<i>Prevotella oralis</i>	30 µg/ml
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	4 µg/ml
<i>Prevotella melaninogenica</i>	4 µg/ml
<i>Veillonell spp</i>	4 µg/ml
<i>Eubacterium saburrem</i>	4 µg/ml

Cantidad mínima inhibitoria de clorhexidina para las distintas bacterias anaerobias. <sup>2</sup>

Muchas especies bacterianas expresan resistencia natural a la CHX. La ineficacia de este agente antimicrobiano frente a algunas bacterias Gram (-), concretamente *Pseudomonadaceae* y *Providentia spp*. La resistencia bacteriana a los antimicrobianos tras su aplicación prolongada se relaciona con la selección de mutantes resistentes. Hennessey en 1973 demostró *in vitro* que la selección de mutantes resistentes a la CHX de *E. coli* y *S. aureus*, era poco frecuente, Schiott en 1976 analizo las consecuencias microbiológicas del empleo de CHX durante 2 años y solo detectaron una ligera disminución de la sensibilidad microbiana, aunque la reducción de la concentración de aerobios y anaerobios salivales fue 30 a 50 % frente al 85 a 90 % conseguido después de 40 días de aplicación de la CHX. Posteriormente, otros autores corroboraron la existencia de una adaptación temporal a la CHX, con una perdida relativa de susceptibilidad de los *Streptococcus* orales.<sup>21</sup>

En general se acepta que la susceptibilidad a CHX de la mayoría de las bacterias orales no se modifica con el uso habitual de este antiséptico; en este sentido, se ha constatado que la aplicación de enjuagues de CHX al 0.12% durante 2 años, disminuye la concentración de especies asociadas con la gingivitis y la enfermedad periodontal, sin originar ningún tipo de resistencias.<sup>21</sup>

#### **4.6.3. Usos de la clorhexidina**

La CHX se usa en concentraciones del 0.3 al 1% para desinfección de heridas, en concentraciones del 4% para la desinfección preoperatoria de manos en cirugía y antisepsia preoperatoria y postoperatoria de la piel. La solución alcohólica al 0.5% se usa en casos como demarcación del campo quirúrgico, asepsia de la piel y manos en zonas de alto riesgo, curación de heridas quirúrgicas, preparación de la piel para procedimientos invasivos, curación de sitios de inserción de catéteres vasculares. En concentraciones del 0.12 y 0.2% como colutorios o enjuagues bucales. Al 2% para uso odontológico como antiséptico de cavidades y de conductos radiculares.<sup>1</sup>

Los usos de la clorhexidina en odontología son:

- Infecciones bucales por diversas causas incluidas las producidas por roces de las prótesis dentales y como consecuencia de algunos tratamientos para el cáncer
- Prevención de infecciones en cirugía bucal (pre y postquirúrgicas)
- Quimioterapéutico para prevención de caries dental
- Como quimioterapia de apoyo al tratamiento periodontal
- Como sustancia irrigadora durante tratamientos radiculares
- Como desinfectante de cavidades antes de la obturación en tratamiento radiculares

Las especialidades odontológicas que más utilizan la CHX como medicamento de acción local es periodoncia y cirugía oral, tanto desde el punto de vista causal como sintomático.

En el mercado podemos encontrar distintos productos con CHX como:

#### Colutorios

En 1970 la solución acuosa de CHX al 0.2 % con alcohol se usó por primera vez como colutorio en Europa. Un producto al 0.1 % está disponible aún hoy en día.

En los EUA un colutorio al 0.12 % fue manufacturado pero para mantener la dosis óptima de casi 20 mg derivados de los 10 ml de los enjuagues al 0.2 %, se recomendó que se usaran 15 ml para una dosis de 18 mg. Más recientemente se han hecho disponibles colutorios al 0.12 % libres de alcohol. <sup>29</sup>

#### Gel de clorhexidina

El uso de CHX en gel permite aplicarla directamente en los sitios afectados únicamente, incrementando su margen de seguridad en cuanto a efectos secundarios, de este modo no se requiere lavar inmediatamente el gel y su biofase de exposición es mayor a la de un colutorio. Por dichos motivos se indica para el cuidado y prevención en zonas críticas tales como es el caso de implantes y prótesis. <sup>29</sup>

#### Dentífricos

Es difícil formular a la CHX para los dentífricos del mismo modo que es difícil formular dentífricos que tengan una buena actividad clínica a la vez que sostienen una buena aceptación por los consumidores. Estudios a largo plazo con dentífricos elaborados con CHX que han evaluado a la biopelícula y a la gingivitis no han sido tan eficientes ya que no han incidido de manera importante en la biopelícula o en los niveles de gingivitis.

Etemadzadeh et al. En 1985, encontraron en un estudio a corto plazo que la actividad contra la biopelícula del dentífrico con CHX fue menor que la del gel. Los dentífricos aumentaron de manera importante las manchas sobre las superficies de los dientes tanto en el número de áreas manchadas como en la intensidad de las manchas. <sup>29</sup>

### Barnices

Los barnices son un sistema de liberación lenta en los cuales un medicamento es disuelto en un vehículo de polímero. Los barnices de CHX se han usado principalmente para la profilaxis contra caries radicular más que como depósitos de CHX con funciones contra la biopelícula en la boca.<sup>29</sup>

### Spray

En algunos países se encuentra disponible spray con CHX al 1%. Su uso es especialmente en pacientes que tienen dificultad motriz para usar cualquier otra de las presentaciones.<sup>2</sup>

### Esponja

Las esponjas para la limpieza del cuerpo completan una línea de esponjas quirúrgicas de un solo uso impregnadas con CHX, listas para usar.<sup>29</sup>

### Membrana

Es una membrana reabsorbible de colágeno que conserva las características básicas con el agregado de CHX.<sup>29</sup>

## **4.7. Membranas**

Una membrana es un elemento artificial de diferentes tamaño y configuración que se sitúa cubriendo un defecto con el fin de conseguir su regeneración. Se realiza una técnica quirúrgica asociada a la colocación de implantes para el tratamiento de los defectos óseos y obtener regeneración ósea.<sup>23</sup>

#### 4.7.1. Clasificación de las membranas

- Membranas no reabsorbibles

Un inconveniente en el uso de este tipo de membrana es la necesidad de su eliminación con un procedimiento quirúrgico en la segunda etapa. Sin embargo, esta desventaja puede ser eclipsada por las ventajas que ofrece. Estas membranas ofrecen una función de barrera eficaz en términos de biocompatibilidad, pueden mantener el espacio durante un período suficiente, son más predecibles en su comportamiento, tienen un menor riesgo de complicaciones a largo plazo y son sencillas de manipular clínicamente.<sup>24</sup>

- Membranas reabsorbibles

Los materiales reabsorbibles ofrecen la ventaja de ser degradados por el cuerpo, eliminando así la necesidad de cirugía de extracción en la segunda etapa. Por esta razón se reduce la morbilidad y riesgo de daño tisular. En principio, las membranas reabsorbibles rígidas promueven un grado similar de regeneración y formación ósea que las no reabsorbibles. Las desventajas de los materiales reabsorbibles, sin embargo, son su grado impredecible de reabsorción.<sup>24</sup>

Los materiales reabsorbibles que se utilizan como membranas pertenecen a los grupos de los polímeros naturales o sintéticos. De estos, el colágeno y poliésteres alifáticos, como el poliglicólido, son mejor conocidos por su aplicabilidad médica.<sup>17</sup>

También existe el polivinil alcohol (PVA) que es un polímero biodegradable e hidrófilico, que tiene múltiples usos en la preparación de materiales plásticos, en la industria textil y en la industria farmacéutica. En esta última se emplea como excipiente, como adhesivo, como formador de películas y como matriz.

#### 4.8. Alcohol polivinílico

El alcohol polivinílico con sus siglas en inglés PVA poly(vinyl)alcohol se presenta en forma de gránulos o polvo blanco. Comercialmente se encuentra disponible en diferentes grados que difieren en peso molecular o en contenido de acetato.<sup>9</sup>

Entre los polímeros más utilizados para la preparación de matrices tenemos el quitosano y el alcohol polivinílico debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad.<sup>9</sup>

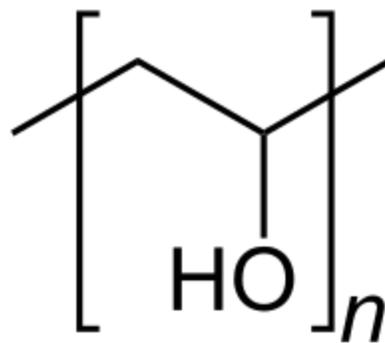


Figura 2. Estructura química del PVA

##### 4.8.1. Propiedades del alcohol polivinílico

El PVA es un polvo insípido, inodoro, de color blanco opaco o crema, tiene color estable hasta 140° C. El PVA forma un coloide reversible en agua caliente, es insoluble en agua fría. En agua a 20° C y con un contenido máximo de 10 % de acetato, es soluble entre un 10% y un 38%. A contenidos mayores del 10% se vuelve insoluble. Presenta buenas propiedades mecánicas y es estable durante largos períodos en diferentes condiciones de temperatura y pH.<sup>9</sup>



Figura 3. PVA en polvo. Fuente propia

#### **4.8.2. Obtención de alcohol polivinílico**

El PVA es un polímero sintético, obtenido por hidrólisis ácida o básica del acetato de polivinilo, más utilizado en la preparación de películas por sus propiedades elásticas, mecánicas y permeabilidad.

#### **4.8.3. Nombres comerciales del alcohol polivinílico**

- Vinyon
- Kuralon
- Mewlon
- Cremona
- Synthofil

#### **4.8.4. Usos del alcohol polivinílico en medicina**

El PVA de alto grado de pureza es utilizado en diversos campos de la medicina como vehiculizante de principios activos farmacológicos, como componente de órganos artificiales, como gotas oculares, útil en casos de queratinitis neuroparalítica y en otras afecciones oculares en las que el flujo lagrimal está disminuido. Se ha utilizado para proteger la córnea durante procedimientos de exploración del ángulo de la cámara anterior del ojo y para mantener convenientemente húmedos los lentes de contacto y como sustitutivo o expansor del plasma sanguíneo humano.

#### 4.9. Métodos de preservación de muestras

Las técnicas de preservación se dividen en 3 categorías de acuerdo al tiempo en que las células permanecen viables.

Un método común es el subcultivo; que consiste en el repique periódico del cultivo en un medio nutritivo fresco. Una vez desarrollados los cultivos, se mantienen a 4°C durante lapsos que van entre 15 días y dos meses. Sin embargo esta técnica presenta algunos inconvenientes, entre los cuales están: Incremento de la posibilidad de mutación con cada transferencia, riesgo de contaminación y alteraciones en el medio de cultivo, durante la etapa en frío, que produce una desecación gradual del mismo.<sup>33</sup>

Hablando de 2 a 5 años, se puede utilizar la desección en diferentes soportes (arena, sílica, gel) donde se detiene el crecimiento debido a la eliminación del agua disponible; así como el almacenamiento en tierra, parafina líquida o suspensión en agua estéril.<sup>33</sup>

Se utiliza la congelación, ya sea en un ultra congelador o mediante nitrógeno líquido y la liofilización. Estas son las mejores técnicas ya que minimizan al máximo el riesgo de cambio genético y mantiene las propiedades de la muestra por 10 años o más.<sup>33</sup>

#### 4.10. Proceso de liofilización

Liofilización es el nombre que recibe el proceso mediante cual un producto es deshidratado por congelación preservando todas sus propiedades.<sup>30</sup>



Figura 4. Liofilizadora labconco. Fuente propia

##### 4.10.1. Beneficios de la liofilización

El secado convencional hace que el material se encoja o contraiga, dañando las células. Sin embargo, en el proceso de liofilización, los componentes sólidos son retenidos en su lugar por el hielo rígido. El proceso de sublimación del hielo que consiste en el cambio de estado de sólido al estado de gas deja vacíos, preservando así la integridad de las actividades y estructura biológica y químicas del producto. Debido a sus cualidades preservantes, la liofilización tiene mucho y variados usos en el laboratorio.<sup>30</sup>

La liofilización se ha convertido en un medio indispensable en muchas aplicaciones bioquímicas y farmacéuticas. Se usa para lograr la estabilidad en almacenamiento a largo plazo de los materiales biológicos tales como los cultivos microbianos, las enzimas, la sangre y productos farmacéuticos. Además, la liofilización tiene aplicaciones en el análisis químico donde es muy conveniente tener la muestra en forma seca o donde la concentración de la muestra aumenta la sensibilidad del análisis. La liofilización es ideal en estas instancias porque los componentes de la muestra permanecen estables y no cambian su composición química.<sup>30</sup>

#### **4.10.2. Etapas del proceso de liofilización**

El proceso de liofilización está compuesto por tres etapas:

- Pre-congelamiento: La cual prepara el producto para el proceso de sublimación.
- Secado primario: En el cual el hielo se sublima sin derretirse.
- Secado secundario: En el cual la humedad residual ligada al material sólido es extraída, dejando un producto seco. Este paso es esencial para la estabilidad de la muestra.<sup>30</sup>

**Tabla 4.** Temperatura segura y tiempos de desecado para materiales selectos.

Material de 10 mm de espesor	Temperatura segura, °C	Temperatura de colector, °C	Horas*
Leche	-5	-40	10
Urea	-7	-40	10
Plasma sanguíneo	-10 a -25	-40	16
Suero	-25	-40	18
Vaccinia	-30 a -40	-50	22
Vacuna de influenza	-30	-50	24
Tejido humano	-30 a -40	-50	48
Tejido vegetal	-50	-80	60

\*Las horas totales requeridas dependen de las cantidades de muestras y/o de las capacidades del sistema de liofilización. (FreeZone. Sistemas de Liofilización. Una Guía Completa de Productos de Liofilización para su Laboratorio).

**Tabla 5.** Presión de vapor de agua a distintas temperaturas

	Temperatura (°C)	Milímetros	Presión(Hg) micrones	MiliBar (mBar)
	100	759.993	759993.0	1010
	90	525.886	5258860.0	699
	60	149.459	149459.0	199
	30	31.826	31826.0	43
	15	12.784	12784.0	17
	0	4.579	4579.0	6

Temperatura típica de producto	-10	1.950	1950.0	2.6
	-20	0.776	776.0	1.1
	-30	0.2859	285.9	0.34
	-40	0.0966	96.6	0.13
Temperatura típica de colector	-50	0.0269	26.9	0.036
	-60	0.00808	8.0	0.012
	-70	0.00194	1.94	0.003
Temperatura de colector en cascada	-80	0.00040	0.40	0.0005
	-90	0.00007	0.07	0.00009

(FreeZone. Sistemas de Liofilización. Una Guía Completa de Productos de Liofilización para su Laboratorio).

## **5. Planteamiento del problema**

Las infecciones odontogénicas y de los tejidos de soporte del diente son padecimientos frecuentes con algunas complicaciones que ponen en riesgo la integridad e incluso la vida de la persona. Son varios los factores sistémicos o locales que influyen como factor etiológico y desarrollo de las infecciones como la edad, género, técnica quirúrgica, técnica de anestesia, susceptibilidad del huésped, virulencia del microorganismo. La administración de antibiótico en conjunto con colutorios de CHX es un poderoso recurso para combatir infecciones dentales o bien de los tejidos periodontales. Pero qué tan eficaz podría ser el uso único de CHX no en presentación de colutorio, sino como matriz; la cual sería colocada directamente en el lecho quirúrgico. Tomando en cuenta la resistencia bacteriana con el uso de antibioticoterapia.

## **6. Pregunta de investigación**

¿Será posible que las matrices de PVA/CHX a una menor concentración de 2 % presenten inhibición de microorganismos de más de 6 mm y se degraden en 7 días?

## **7. Justificación**

Como ya fue mencionado, el PVA es uno de los polímeros más utilizados en la elaboración de matrices debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad.

Por su parte, la CHX es un antiséptico por excelencia, por lo que se propone su uso en la elaboración de una matriz degradable de PVA/CHX que pueda ser elaborada mediante un proceso sencillo que permita evaluar la susceptibilidad de distintos microorganismos ante ella, para proponer su uso en distintas áreas de la medicina y la odontología, para que posteriormente se puedan realizar pruebas in vivo que permitan comprobar si esta matriz podría sustituir el uso de antibiótico.

## **8. Objetivo general**

Preparar matrices de PVA/CHX en concentraciones 2%, 1.5%, 1%, 0.5%, 0.2%, 0.1%, 0.05%, 0.03% y 0.02%, realizar cultivos para evaluar su condición antimicrobiana y evaluar su degradación para proponerlas como alternativa de tratamiento ante infecciones odontogénicas y de los tejidos de soporte dental.

## 9. Objetivos específicos

1. Elaborar una matriz de PVA/CHX en diferentes concentraciones que varíen del 2 %, 1.5 %, 1 %, 0.5 %, 0.2 %, 0.1 %, 0.05 %, 0.03 % y 0.02 %.
2. Evaluar el efecto antimicrobiano que tengan las matrices en sus distintas concentraciones ante distintos microorganismos como *S. aureus*, *E.coli* y *P. aeruginosa* durante las primeras 24 y 48 hrs de incubación.
3. Evaluar el tiempo de degradación de las matrices en sus distintas concentraciones a las 0, 48 y 168 hrs en saliva artificial.

## **10.Hipótesis**

### **Hipótesis de investigación**

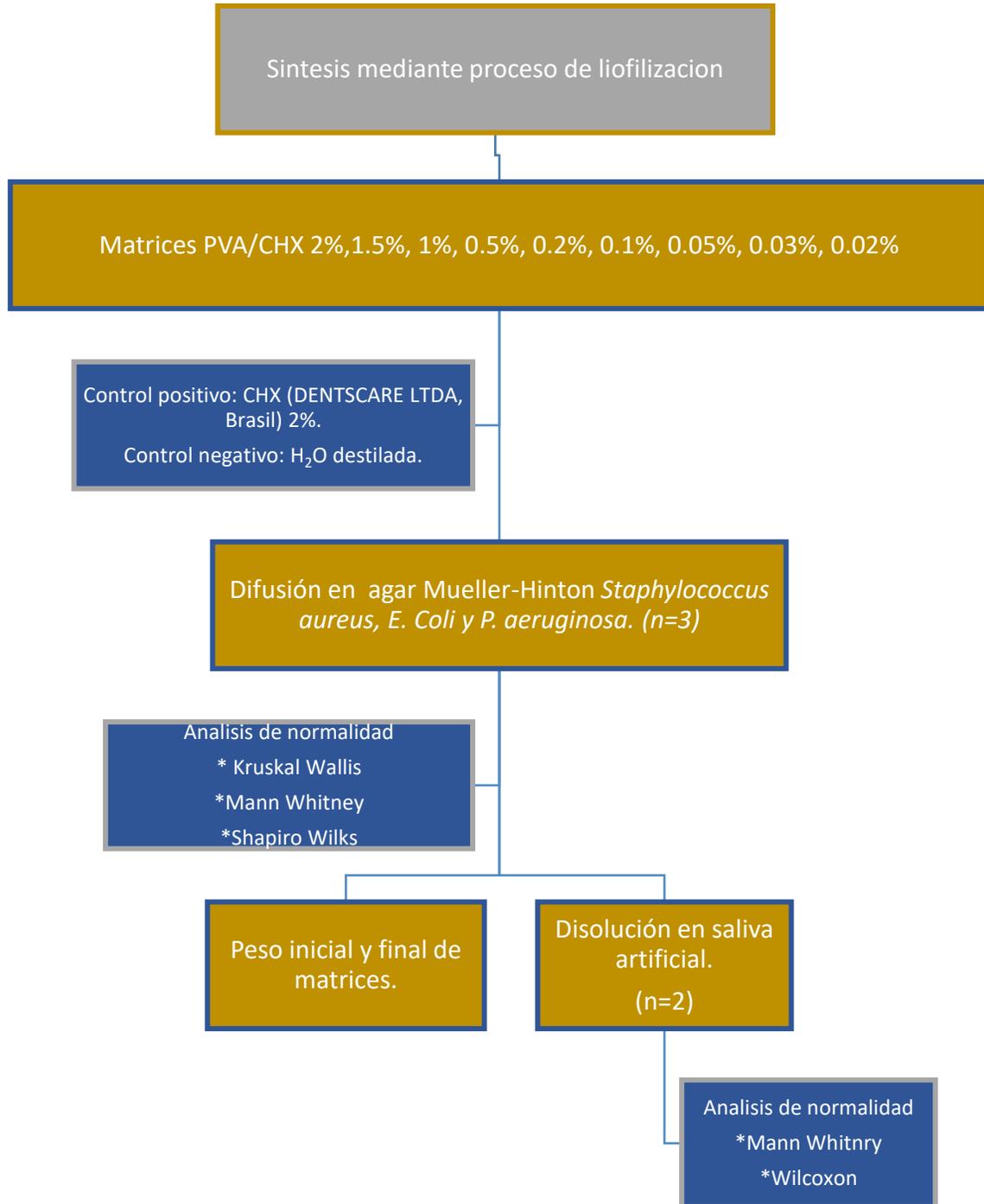
Las matrices de PVA/CHX inhiben el crecimiento de las cepas de *S. aureus*, *E.coli* y *P. aeruginosa* y la degradación de las matrices se logra en un lapso menos a siete días.

### **Hipótesis nula**

Las matrices de PVA/CHX no inhiben el crecimiento de las cepas de *S. aureus*, *E.coli* y *P. aeruginosa* y la degradación de las matrices se logra en un lapso mayor o igual a siete días.

## 11. Metodología.

### Diagrama experimental.



- 11.1. Tipo de estudio:** Experimental puro, descriptivo.
- 11.2. Variables dependientes:** Efecto antimicrobiano y tiempo de degradación.
- 11.3. Variables independientes:** Concentración de clorhexidina utilizada y tipo de microorganismos utilizado.
- 11.4. Criterio de inclusión:** *Staphylococcus aureus*, *E. Coli* y *P. aeruginosa* con adecuado crecimiento, matrices de PVA/CHX que cumplieran con textura, grosor y diámetro adecuado, CHX (Clorhexidina al 2% DENTSCARE LTDA, Brasil).
- 11.5. Criterios de no inclusión:** muestras que no cumplieron con los criterios de inclusión matrices PVA/CHX que no se sintetizaron, cultivos de microorganismo sin una adecuada densidad, muestras de agar con fracturas.
- 11.6. Criterios de eliminación:** matrices que se fracturaron durante el ensayo del efecto antimicrobiano, cultivos que mostraban apariencia o presencia de contaminación.
- 11.7. Universo:** microorganismos presentes en cavidad bucal y compuestos derivados PVA y CHX.
- 11.8. Muestra:** *Staphylococcus aureus*, *E. Coli*, *P. aeruginosa* y matrices PVA/CHX.
- 11.9. Tipo de muestreo:** No probabilística por cuota de 3 muestras por grupo.

#### **11.10. Material y equipo**

Agar Mueller-Hinton (CM0337 IVD, OXOID, LTD, Inglaterra), Caja de Petri (SyM Laboratorios, México), Incubadora (Incucell, MMM Medcenter Einrichtungen GmbH, Alemania), Autoclave (Cristófoli, Brasil), Pipeta (Finnpipette C1 2-20 µl, Thermo Fisher Scientific, Finlandia), Pipeta (Finnpipette C1 20-200 µl, Thermo Fisher Scientific, Finlandia), Balanza (Pionner Balances, Ohaus Corporation, USA), Gabinete de bioseguridad (Thermo Fisher Scientific, Finlandia), Liofilizadora manual (LABCONCO, Kansas, Misuri), Espectrofotómetro (Thermo Scientific, Finlandia), Calibrador vernier digital (Control Company, EUA).

### **11.11. Reactivos**

Clorhexidina al 2% (DENTSCARE LTDA, Brasil), Poly vinyl alcohol (99+% hidrolizado, SIGMA-ALDRICH, USA).

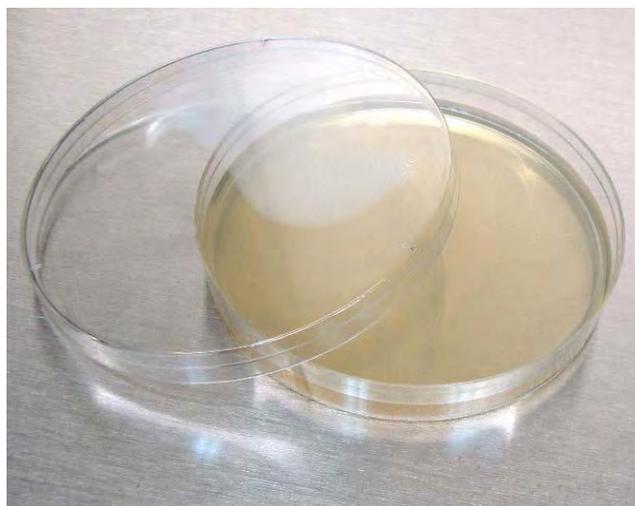
### **11.12. Importancia del medio de cultivo**

Se considera el agar Mueller-Hinton como el mejor para pruebas de susceptibilidad de rutina de bacterias no fastidiosas por las siguientes razones: Reproductividad aceptable lote a lote para ensayos de susceptibilidad, es bajo en inhibidores de sulfonamida, trimetoprim y tetraciclina, crecimiento satisfactorio para la mayoría de los patógenos no fastidiosos.

### **11.13. Método**

#### **11.13.1. Preparación del medio de cultivo**

Preparamos nuestro medio de cultivo Mueller-Hinton, añadimos 1,900 g a 500 ml de agua destilada. Llevamos a ebullición hasta su disolución completa. Esterilizamos en autoclave a 121°C Durante 15 min. Inmediatamente después de autoclavar dejamos enfriar en un baño de agua a 45-50°C. Colocamos 2 ml del preparado en cajas de Petri plásticas con capacidad de 5 ml. Etiquetamos y guardamos en refrigerador (2-8°C).



*Figura 5. Caja de Petri con agar Muller-Hinton. Fuente propia.*

#### **11.13.2. Preparación del inóculo**

Se seleccionaron 3 a 5 colonias bien aisladas de *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *Porphyromonas aeuroginosa* de un agar de cultivo. Se tocó la colonia por arriba con un asa y el crecimiento se transfirió a un tubo con 5 ml de caldo Muller-Hinton. El caldo se incubó a 35°C de 18 h.

La turbidez del caldo se ajustó con solución salina estéril para obtener una turbidez ópticamente comparable a un estándar de 0.5 McFarland. Para ajustarlo apropiadamente usamos un espectrofotómetro, Thermo Scientific, Finlandia.

#### **11.13.3. Inoculación de las placas**

En un tiempo de 10-15 min después de ajustar la solución, con ayuda de un hisopo inoculamos la superficie de una caja de agar Mueller-Hinton por estriado sobre toda la superficie asegurando una distribución uniforme del inóculo.

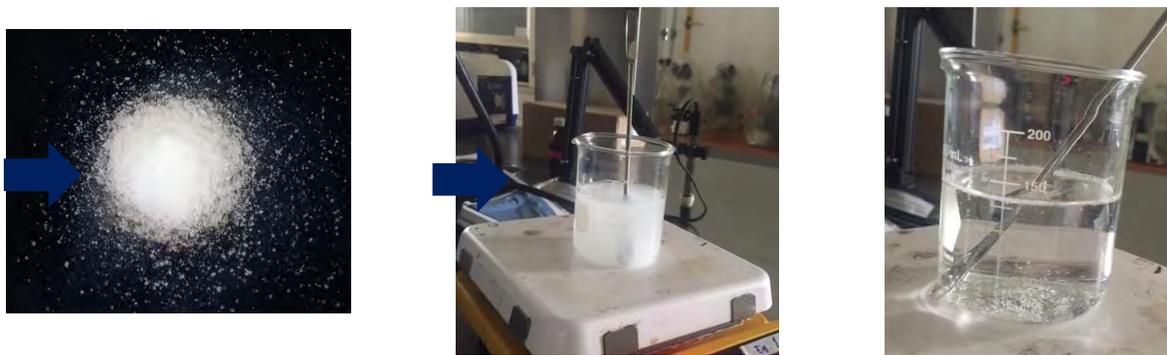
#### **11.13.4. Preparación de muestras alcohol polivinilico-clorhexidina**

Preparamos la clorhexidina CHG (Clorhexidina S, Dentscare Ltda, Joinville SC, Brasil) a distintas concentraciones, usando como disolvente agua bidestilada.

**Tabla 6.** Composición de cada una de las muestras. (Fuente propia)

No. Muestra	Concentración	Composición
1	2%	1 ml CHX 2%
2	1.5%	1.5 ml CHX + 0.5 ml H <sub>2</sub> O
3	1%	1 ml CHX + 1 ml H <sub>2</sub> O
4	0.5%	0.5 ml CHX + 1.5 ml H <sub>2</sub> O
5	0.2%	0.2 ml CHX + 1.8 ml H <sub>2</sub> O
6	0.1%	0.1 ml CHX + 1.9 ml H <sub>2</sub> O
7	0.05%	0.05 ml CHX + 1.95 ml H <sub>2</sub> O
8	0.03%	0.03 ml CHX + 1.97 ml H <sub>2</sub> O
9	0.02%	0.02 ml CHX + 1.98 ml H <sub>2</sub> O

Por otra parte, agregamos 40 mg de polivinil alcohol, 99+% hydrolyzed, (SIGMA-ALDRICH, USA) a 150 ml de H<sub>2</sub>O a 20°C. Posteriormente agregamos la disolución de polivinil alcohol a las muestras de clorhexidina y mezclamos perfectamente.



*Figura 6. Disolución del PVA en H<sub>2</sub>O. Fuente propia*

**Tabla 7.** Composición alcohol polivinílico/clorhexidina para cada grupo. (Fuente propia)

Grupo (n=3)	Composición
Grupo 1	1 ml PVA + 1 ml CHX al 2%
Grupo 2	1 ml PVA + 1 ml CHX al 1.5%
Grupo 3	1 ml PVA + 1 ml CHX al 1%
Grupo 4	1 ml PVA + 1 ml CHX al 0.5%
Grupo 5	1 ml PVA + 1 ml CHX al 0.2%
Grupo 6	1 ml PVA + 1 ml CHX al 0.1%
Grupo 7	1 ml PVA + 1 ml CHX al 0.05%
Grupo 8	1 ml PVA + 1 ml CHX al 0.03%
Grupo 9	1 ml PVA + 1 ml CHX al 0.02%

#### **11.13.5. Liofilización de muestras alcohol polivinílico/clorhexidina**

Colocamos las muestras de PVA/CHX en el congelador a -80 °C durante 24 hrs, verificamos que las muestras estuvieran totalmente congeladas sin rastro de agua en la superficie y las trasladamos a la liofilizadora.

Verificamos que las válvulas de la cámara de secado estuvieran bien cerradas y colocamos los frascos con su tapa y adaptador en las válvulas.

Dentro de los frascos colocamos las muestras y programamos la liofilizadora a una presión de 12 Pa y una temperatura de -46°C durante 18 h.



Figura 7. Valores de presión y temperatura. Fuente propia



Figura 8. Liofilizadora labconco con vasos. Fuente propia



Figura 9. Muestras PVA/CHX en vasos para liofilizar. Fuente propia



Figura 10. Matrices PVA/CHX liofilizadas. Fuente propia

### 11.13.6. Aplicación de los discos a las placas inoculadas

Recortamos la matriz de PVA-CHX en discos con un diámetro de 7 mm. Dispensamos un disco sobre la superficie de cada placa inoculada. Invertimos las cajas de Petri y las colocamos en Incubadora, Incucell, MMM Medcenter Einrichtungen GmbH, Alemania a 37 °C durante 24 y 48 hrs.



Figura 11. Matriz PVA/CHX. Fuente propia



Figura 12. Matrices PVA/CHX en discos. Fuente propia

### 11.13.7. Prueba de degradación

Se recortaron las matrices en discos con un diámetro de 7 mm, las muestras fueron pesadas y se registró el valor inicial (g). Posteriormente se agregaron a un tubo de micro centrifuga con 1 ml de saliva artificial (composición: Agua: 98.97 %; sales minerales: 0.63 %; carboximetilcelulosa 0.40 %). Se analizó la solución a una longitud de onda de 350 nm a las 0 h, posteriormente colocamos las muestras en incubación a 37°C durante los periodos de tiempo: 24, 96 y 168 h. Una vez cumplido el periodo de incubación, se centrifugaron las muestras durante 10 min a una temperatura de 4°C y 1500 rpm, posteriormente se analizó la solución a una longitud de onda de 350 nm y se registraron los valores de absorbancia. Finalmente las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente por dos días y se pesaron.

Registramos el peso inicial y final de las matrices en un periodo de 7 días.



Figura 13. Longitud matriz PVA/CHX a los cero días.  
Fuente propia



Figura 14. Longitud matriz PVA/CHX a los siete días.  
Fuente propia

## 12.Resultados

### 12.1. Lectura de las placas

Después de 24 y 48 h de incubación, cada placa fue examinada. Las zonas de inhibición debieron ser uniformemente circulares en una cepa homogénea de crecimiento sin que hubiera colonias independientes. Las zonas de inhibición son medidas con Calibrador vernier digital (Control Company, EUA), tomando como margen de las zonas el área donde no se observa crecimiento visible.



Figura 15. Zonas de inhibición para *S.aureus*  
Fuente propia



Figura 16. Zonas de inhibición para *E.coli*  
Fuente propia



Figura 17. Zonas de inhibición para *P. aureginosa*  
Fuente propia

## 12.2. Estadísticos descriptivos.

**Tabla 8.** Estadísticos descriptivos para S.aureus. (Fuente propia)

Concentración	Promedio	Desviación estándar
Matrices PVA/CHX al 2%	18.2948	± 0.2019
Matrices PVA/CHX al 1.5%	17.3743	± 1.6354
Matrices PVA/CHX al 1%	18.2444	± 0.9964
Matrices PVA/CHX al 0.5%	18.2579	± 1.6762
Matrices PVA/CHX al 0.2%	18.1620	± 0.8555
Matrices PVA/CHX al 0.1%	18.1577	± 0.1692
Matrices PVA/CHX al 0.05%	14.6173	± 0.8608
Matrices PVA/CHX al 0.03%	14.5795	± 1.1016
Matrices PVA/CHX al 0.02%	14.2957	± 1.0105

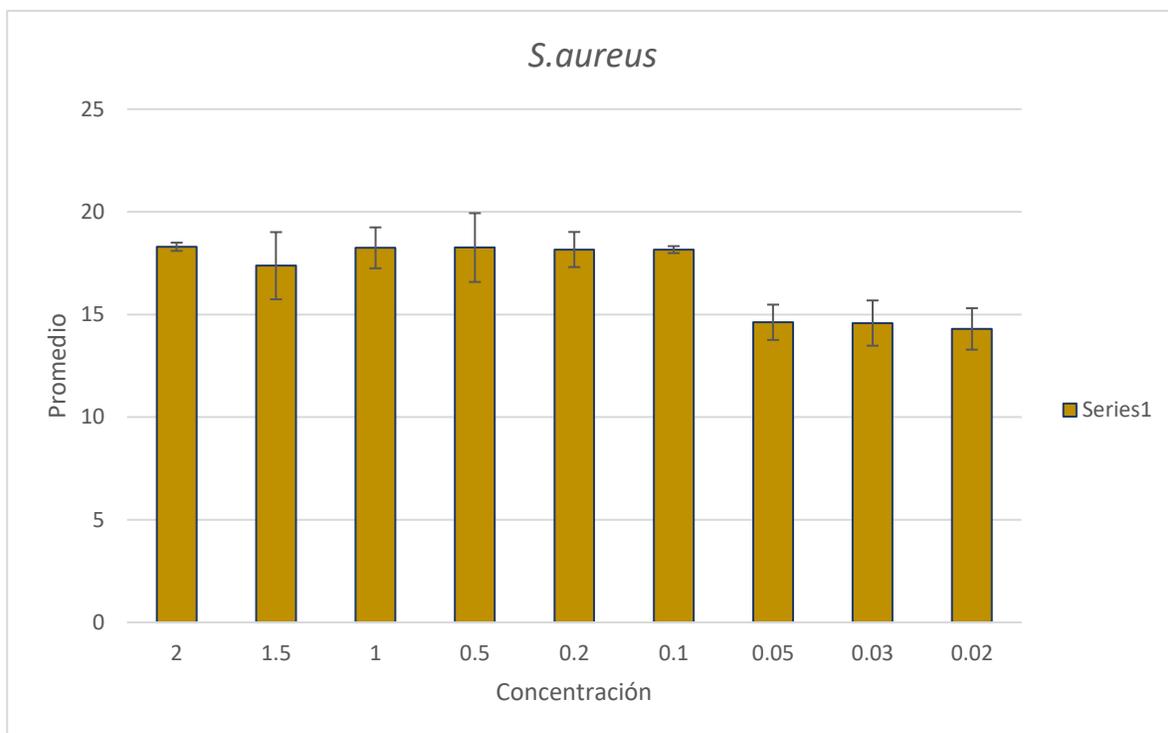
**Tabla 9.** Estadísticos descriptivos para E.coli. (Fuente propia)

Concentración	Promedio	Desviación estándar
Matrices PVA/CHX al 2%	15.7327	± 0.2189
Matrices PVA/CHX al 1.5%	15.6815	± 1.3197
Matrices PVA/CHX al 1%	15.5826	± 0.5329
Matrices PVA/CHX al 0.5%	15.6170	± 0.4014
Matrices PVA/CHX al 0.2%	15.5385	± 0.5005
Matrices PVA/CHX al 0.1%	15.5227	± 0.5696
Matrices PVA/CHX al 0.05%	12.4929	± 0.2425
Matrices PVA/CHX al 0.03%	12.5252	± 0.5885
Matrices PVA/CHX al 0.02%	12.5857	± 0.4175

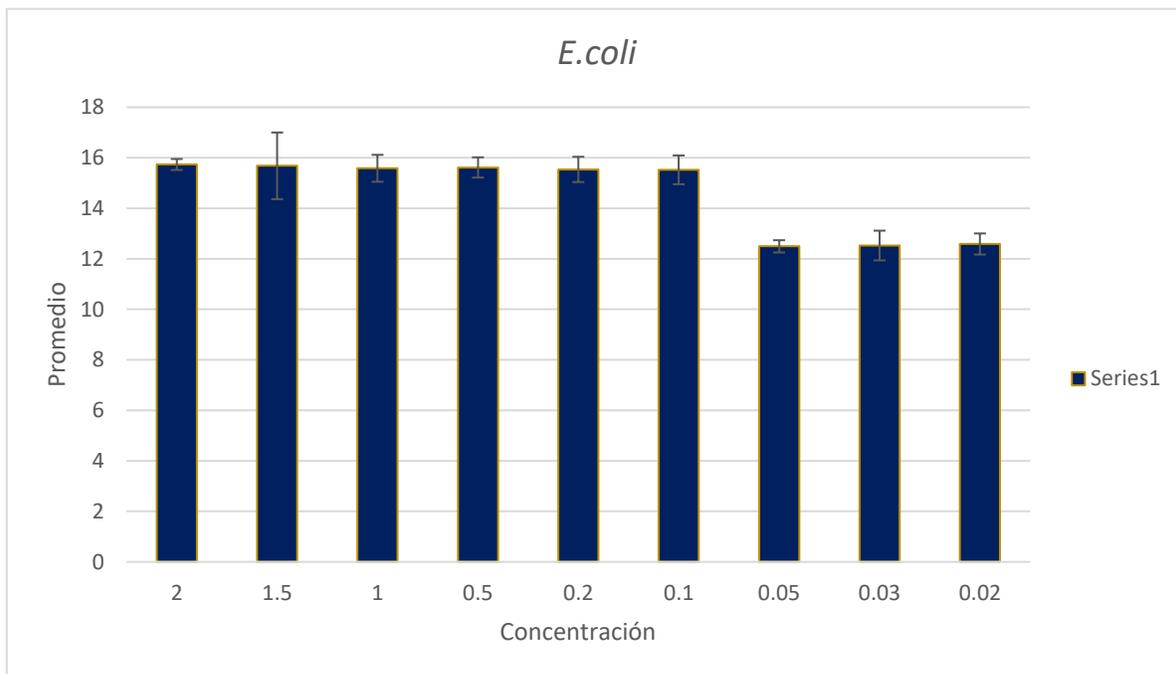
**Tabla 10.** Estadísticos descriptivos para *P.aureginosa* (Fuente propia)

Concentración	Promedio	Desviación estándar
Matrices PVA/CHX al 2%	13.5066	± 1.6438
Matrices PVA/CHX al 1.5%	13.5909	± 0.9542
Matrices PVA/CHX al 1%	13.6063	± 0.3697
Matrices PVA/CHX al 0.5%	13.5345	± 0.8707
Matrices PVA/CHX al 0.2%	13.4317	± 0.3477
Matrices PVA/CHX al 0.1%	13.3864	± 1.2587
Matrices PVA/CHX al 0.05%	13.1431	± 2.4622
Matrices PVA/CHX al 0.03%	12.8665	± 2.0364
Matrices PVA/CHX al 0.02%	12.4401	± 2.3309

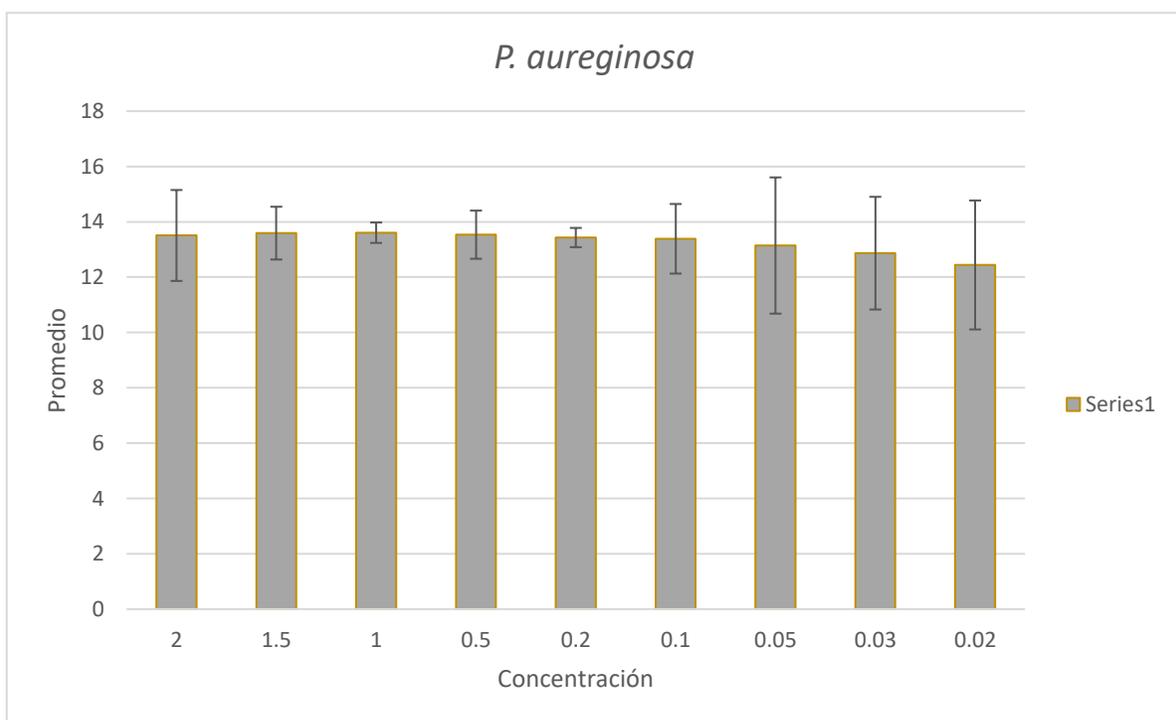
**Grafico 1.** Comparación entre concentraciones para *S. Aureus*. (Fuente propia)



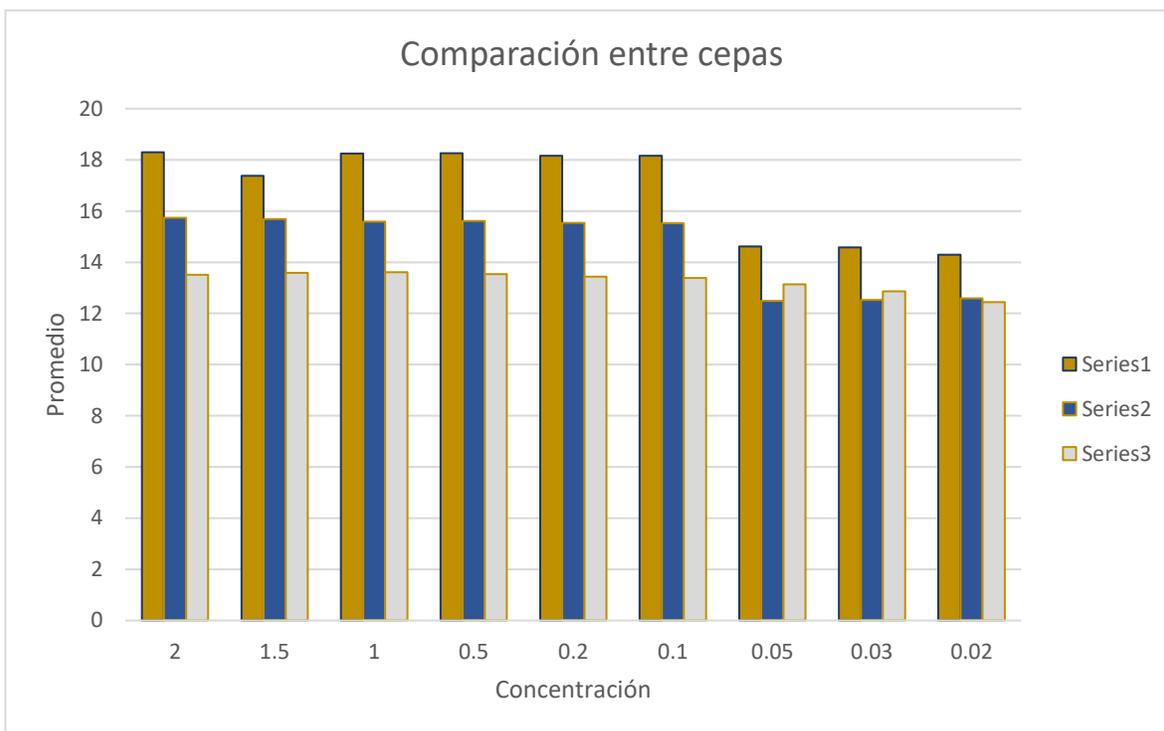
**Grafico 2.** Comparación entre concentraciones para *E. Coli*. (Fuente propia)



**Grafico 3.** Comparación entre concentraciones para *P. Aureginosa*. (Fuente propia)



**Grafico 4.** Comparación de concentraciones entre cepas. (Fuente propia).



Serie 1: *S. aureus*, serie 2: *E. coli*, serie 3: *P. aureginosa*.

### 12.3. Estadísticos inferenciales

#### 12.3.1. Kruskal-Wallis

**Tabla 12.** Matrices de PVA/CHG al 0.1%, 0.2%, 0.5% y control positivo (CHX 1.5 %). Fuente propia.

Prueba Kruskal-Wallis	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. auriginosa</i>
Valor del estadístico de prueba	12.127	12.413	16.940
Grados de libertad	3	3	3
Valor de <i>p</i>	0.007	0.006	<b>0.001</b>

**Tabla 13.** Matrices de PVA/CHG al 1%, 1.5% 2% - control positivo (CHX 1.5%). Fuente propia.

Prueba Kruskal-Wallis	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. auriginosa</i>
Valor del estadístico de prueba	14.127	12.753	4.727
Grados de libertad	3	3	3
Valor de <i>p</i>	<b>0.003</b>	<b>0.005</b>	0.193

**Tabla 14.** Matrices de PVA/CHG al 0.01%, 0.03%, 0.05% - control positivo (CHX 1.5%) Fuente propia.

Prueba Kruskal-Wallis	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. auriginosa</i>
Valor del estadístico de prueba	19.829	14.220	12.247
Grados de libertad	3	3	3
Valor de <i>p</i>	<b>0.000</b>	<b>0.003</b>	0.007

#### 12.4. Pruebas de normalidad

**Tabla 11.** Asimetría y curtosis para cada una de las cepas. (Fuente propia).

Bacteria	Concentración	Asimetría	Curtosis
<i>S. aureus</i>	Control positivo (CHX 1.5%)	0.54	-1.266
	Matrices PVA/CHG al 0.1%	0.996	0.918
	Matrices PVA/CHG al 0.2%	-0.574	-1.609
	Matrices PVA/CHG al 0.5%	0.46	-3.181
	Matrices PVA/CHG al 1%	-0.111	-0.700
	Matrices PVA/CHG al 1.5%	0.120	-0.953
	Matrices PVA/CHG al 2%	0.958	-1.709
	Matrices PVA/CHG al 0.02%	0.742	-1.775
	Matrices PVA/CHG al 0.03%	-0.485	-2.208
	Matrices PVA/CHG al 0.05%	-1.204	1.159
	<i>E. coli</i>	Control positivo (CHX 1.5%)	0.827
Matrices PVA/CHG al 0.1%		0.373	-1.986
Matrices PVA/CHG al 0.2%		-0.189	-2.042
Matrices PVA/CHG al 0.5%		-0.735	-0.991
Matrices PVA/CHG al 1%		-0.428	-1.219
Matrices PVA/CHG al 1.5%		2.255	5.239
Matrices PVA/CHG al 2%		-0.458	-0.878
Matrices PVA/CHG al 0.02%		0.371	0.007
Matrices PVA/CHG al 0.03%		0.492	-0.476

<b><i>P. aureginosa</i></b>	Matrices PVA/CHG al 0.05%	-1221	1.495
	Control positivo (CHX 1.5%)	-0.496	-2.191
	Matrices PVA/CHG al 0.1%	-1.958	4.382
	Matrices PVA/CHG al 0.2%	-0.115	1.978
	Matrices PVA/CHG al 0.5%	-0.323	-1.365
	Matrices PVA/CHG al 1%	-1.757	3.055
	Matrices PVA/CHG al 1.5%	1.131	1.752
	Matrices PVA/CHG al 2%	0.564	-1.897
	Matrices PVA/CHG al 0.02%	0.204	-1.879
	Matrices PVA/CHG al 0.03%	0.858	-1.843
	Matrices PVA/CHG al 0.05%	1.182	-0.176

#### 12.4.1. Mann-Whitney

**Tabla 15.** Comparación entre concentraciones para *S.aureus*. (Fuente propia).

Comparación entre concentraciones	Valor del estadístico de prueba	Valor de <i>p</i>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.1%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.2%	2.000	0.010
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.5%	0.000	<b>0.004*</b>

Control positive (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 1%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positive (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 1.5%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positive (CHG 1.5%) – Matrices PVA/CHG al 2%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positive (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.02%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positive (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.03%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positive (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.05%	0.000	<b>0.004*</b>
Matrices PVA/CHG al 0.01% – Matrices PVA/CHG al 0.03%	1.000	0.006
matrices PVA/CHG al 0.01% – matrices PVA/CHG al 0.05%	0.000	<b>0.004*</b>
matrices PVA/CHG al 0.03% – matrices PVA/CHG al 0.05%	8.000	0.109
matrices PVA/CHG al 0.1% – matrices PVA/CHG al 0.2%	15.000	0.631
matrices PVA/CHG al 0.1% – Matrices PVA/CHG al 0.5%	18.000	1.000
matrices PVA/CHG al 0.2% – Matrices PVA/CHG al 0.5%	14.000	0.522

matrices PVA/CHG al 1% – Matrices PVA/CHG al 1.5%	16.000	0.749
matrices PVA/CHG al 1% – Matrices PVA/CHG al 2%	10.000	0.200
Matrices PVA/CHG al 1.5% – Matrices PVA/CHG al 2%	11.000	0.262

\*Valor estadísticamente significativo

**Tabla 16.** Comparación entre concentraciones para *E. coli*. (Fuente propia).

Comparación entre concentraciones	Valor del estadístico de prueba	Valor de <i>p</i>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.1%	4.000	0.025
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.2%	15.000	0.631
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.5%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 1%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 1.5%	11.000	0.262
Control positivo (CHG 1.5%) – Matrices PVA/CHG al 2%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.02%	0.000	<b>0.004*</b>

Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.03%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.05%	0.000	<b>0.004*</b>
Matrices PVA/CHG al 0.01% – Matrices PVA/CHG al 0.03%	14.000	0.522
matrices PVA/CHG al 0.01% – matrices PVA/CHG al 0.05%	0.000	<b>0.004*</b>
matrices PVA/CHG al 0.03% – matrices PVA/CHG al 0.05%	17.000	0.873
matrices PVA/CHG al 0.1% – matrices PVA/CHG al 0.2%	9.000	0.150
matrices PVA/CHG al 0.1% – Matrices PVA/CHG al 0.5%	12.000	0.337
matrices PVA/CHG al 0.2% – Matrices PVA/CHG al 0.5%	1.000	0.006
matrices PVA/CHG al 1% – Matrices PVA/CHG al 1.5%	14.000	0.522
matrices PVA/CHG al 1% – Matrices PVA/CHG al 2%	0.000	<b>0.004*</b>
Matrices PVA/CHG al 1.5% – Matrices PVA/CHG al 2%	10.000	0.200

\*Valor estadísticamente significativo

**Tabla 17.** Comparación para concentraciones entre *P.aureginosa*. (Fuente propia).

Comparación entre concentraciones	Valor del estadístico de prueba	Valor de <i>p</i>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.1%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.2%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.5%	5.000	0.037
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 1%	9.000	0.150
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 1.5%	15.000	0.631
Control positivo (CHG 1.5%) – Matrices PVA/CHG al 2%	13.000	0.423
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.02%	6.000	0.055
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.03%	0.000	<b>0.004*</b>
Control positivo (CHG 1.5%) – matrices PVA/CHG al 0.05%	1.000	0.006
Matrices PVA/CHG al 0.01% – Matrices PVA/CHG al 0.03%	10.000	0.200
matrices PVA/CHG al 0.01% – matrices PVA/CHG al 0.05%	8.000	0.109

matrices PVA/CHG al 0.03% – matrices PVA/CHG al 0.05%	15.000	0.631
matrices PVA/CHG al 0.1% – matrices PVA/CHG al 0.2%	11.000	0.262
matrices PVA/CHG al 0.1% – Matrices PVA/CHG al 0.5%	2.000	0.010
matrices PVA/CHG al 0.2% – Matrices PVA/CHG al 0.5%	3.000	0.016
matrices PVA/CHG al 1% – Matrices PVA/CHG al 1.5%	9.000	0.150
matrices PVA/CHG al 1% – Matrices PVA/CHG al 2%	7.500	0.092
Matrices PVA/CHG al 1.5% – Matrices PVA/CHG al 2%	10.000	0.200

\*Valor estadísticamente significativo

**Tabla 18.** Comparaciones entre cepas para las distintas concentraciones. (Fuente propia)

Comparación entre cepas	Concentraciones	Valor del estadístico de prueba	Valor de p
<b><i>S. aureus - E. coli</i></b>	Matrices PVA/CHX 0.1%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.2%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.5%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 1%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 1.5%	0.000	<b>0.004*</b>

	Matrices PVA/CHX 2%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.02	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.03	5.000	0.037
	Matrices PVA/CHX 0.05	8.000	0.109
<b><i>S. aureus - P. aureginosa</i></b>	Matrices PVA/CHX 0.1%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.2%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.5%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 1%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 1.5%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 2%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.02	8.000	0.109
	Matrices PVA/CHX 0.03	7.000	0.078
	Matrices PVA/CHX 0.05	13.000	0.423
<b><i>E. coli - P. aureginosa</i></b>	Matrices PVA/CHX 0.1%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.2%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 0.5%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 1%	0.000	<b>0.004*</b>
	Matrices PVA/CHX 1.5%	12.000	0.337
	Matrices PVA/CHX 2%	10.000	0.200
	Matrices PVA/CHX 0.02	12.000	0.337
	Matrices PVA/CHX 0.03	17.000	0.873

	Matrices PVA/CHX 0.05	12.000	0.337
--	--------------------------	--------	-------

\*Valor estadísticamente significativo

#### 12.4.2. Shapiro-Wilk

**Tabla 19.** Valor del estadístico y valor de p para las distintas cepas. (Fuente propia)

Bacteria	Concentración	Valor del estadístico	Valor de p
<b><i>S. aureus</i></b>	Control	0.969	6
	Matrices PVA/CHX 0.1%	0.924	6
	Matrices PVA/CHX 0.2%	0.903	6
	Matrices PVA/CHX 0.5%	0.756	6
	Matrices PVA/CHX 1%	0.975	6
	Matrices PVA/CHX 1.5%	0.957	6
	Matrices PVA/CHX 2%	0.738	6
	Matrices PVA/CHX 0.02	0.831	6
	Matrices PVA/CHX 0.03	0.828	6
	Matrices PVA/CHX 0.05	0.906	6
<b><i>E. coli</i></b>	Control	0.941	6
	Matrices PVA/CHX 0.1%	0.872	6
	Matrices PVA/CHX 0.2%	0.919	6
	Matrices PVA/CHX 0.5%	0.911	6
	Matrices PVA/CHX 1%	0.899	6
	Matrices PVA/CHX 1.5%	0.944	6
	Matrices PVA/CHX 2%	0.656	6

	Matrices PVA/CHX 0.02	0.960	6
	Matrices PVA/CHX 0.03	0.984	6
	Matrices PVA/CHX 0.05	0.933	6
<b>P. aureginosa</b>	Control	0.847	6
	Matrices PVA/CHX 0.1%	0.772	6
	Matrices PVA/CHX 0.2%	0.931	6
	Matrices PVA/CHX 0.5%	0.937	6
	Matrices PVA/CHX 1%	0.792	6
	Matrices PVA/CHX 1.5%	0.873	6
	Matrices PVA/CHX 2%	0.860	6
	Matrices PVA/CHX 0.02	0.874	6
	Matrices PVA/CHX 0.03	0.776	6
	Matrices PVA/CHX 0.05	0.813	6

## 12.5. Análisis de degradación

### 12.5.1. Pesos iniciales y finales

**Tabla 20.** Registro de peso inicial-final de las matrices y porcentajes de masa perdida a los siete días de incubación durante proceso de degradación. (Fuente propia)

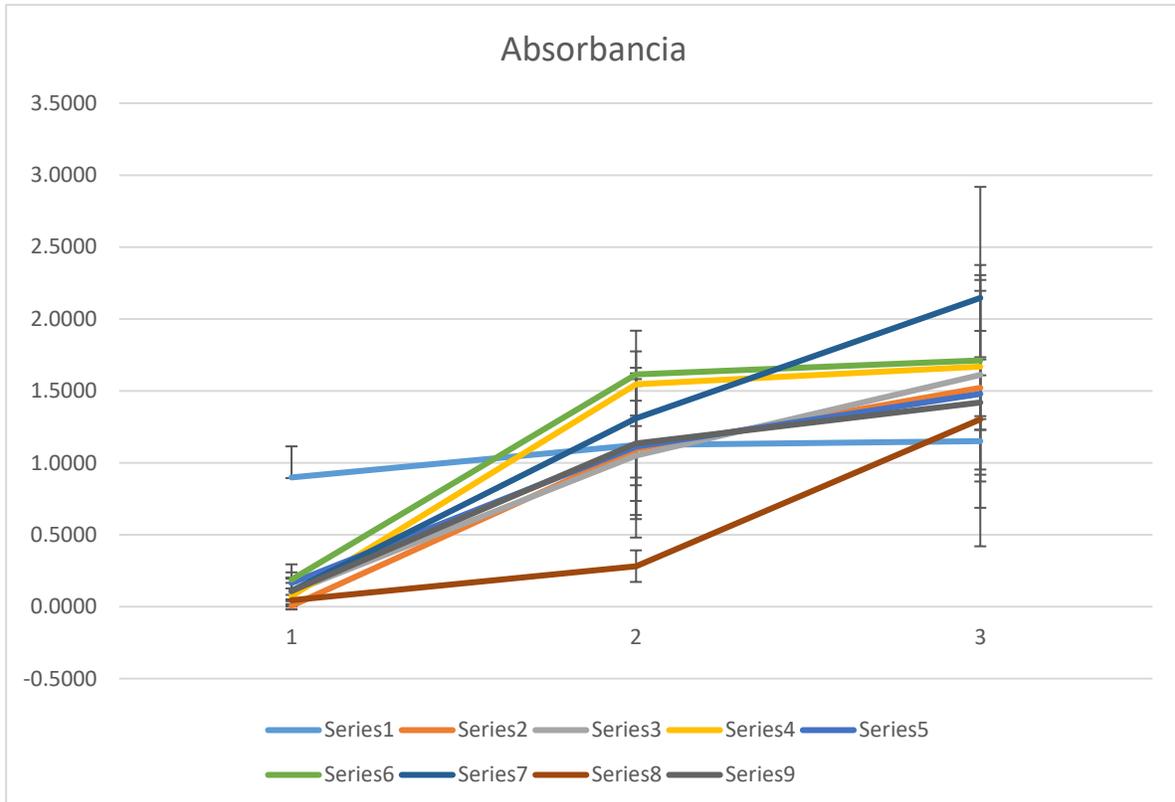
Grupo experimental (n=2)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Porcentaje de masa perdida
Matrices PVA/CHX al 2%	0.0123± 0.0032*	0.0051±0.0007	58.53%
Matrices PVA/CHX al 1.5%	0.0133± 0.0002	0.0046±0.0009	65.41%
Matrices PVA/CHX al 1%	0.0183±0.0046	0.0043±0.0004	76.50%
Matrices PVA/CHX al 0.5%	0.0163±0.0052	0.0046±0.0001	71.77%
Matrices PVA/CHX al 0.2%	0.0176±0.0107	0.0037±0.0004	78.97%
Matrices PVA/CHX al 0.1%	0.0140±0.0014	0.0037±0.0001	73.57%
Matrices PVA/CHG al 0.05%	0.0130±0.0005	0.0036±0.0004	72.30%
Matrices PVA/CHG al 0.03%	0.0153±0.0052	0.0091±0.0002	40.52%
Matrices PVA/CHG al 0.02%	0.0116±0.0001	0.0024±0.0007	79.31%

**Tabla 21.** Registro valores de absorbancia de la degradación de matrices a las 0, 48 y 168. (Fuente propia).

Grupo (n= 2)	0 horas	48 horas	168 horas
<i>Matrices PVA/CHX al 2%</i>	0.8983±0.2161	1.1239±0.1317	1.1506±0.1534
<i>Matrices PVA/CHX al 1.5%</i>	0.0053±0.0046	1.0952±0.4867	1.5216±0.1971
<i>Matrices PVA/CHX al 1%</i>	0.1029±0.0918	1.0513±0.5708	1.6112±0.6937
<i>Matrices PVA/CHX al 0.5%</i>	0.0737±0.0916	1.5461±0.1144	1.6689±1.2493
<i>Matrices PVA/CHX al 0.2%</i>	0.1643±0.0373	1.1129±0.2155	1.4792±0.7919
<i>Matrices PVA/CHX al 0.1%</i>	0.1882±0.1062	1.6147±0.3037	1.7122±0.4835
<i>Matrices PVA/CHX al 0.05%</i>	0.1094±0.1290	1.3093±0.4654	2.1461±0.2290
<i>Matrices PVA/CHX al 0.03%</i>	0.0446±0.0063	0.2817±0.1099	1.3021±0.4321
<i>Matrices PVA/CHX al 0.02%</i>	0.1086±0.0912	1.135±0.4000	1.4193±0.1892

### 12.5.2. Graficas de residuos para absorbancia

**Grafico 5.** Absorbancia en matrices PVA/CHX al 2- 0.02% a las 0, 48 y 168 h. (Fuente propia)



Serie 1: Matrices 2%, serie 2: Matrices 1.5%, serie 3: Matrices 1%, serie 4: Matrices 0.5%, serie 5: Matrices 0.2%, serie 6: Matrices 0.1%, serie 7: Matrices 0.05%, serie 8: Matrices 0.03%, serie 9: Matrices 0.02%. Fuente: Propia.

### 12.5.3. Estadísticos inferenciales

**Tabla 22:** Comparación de absorbancia entre los 0 y 168 h. (Fuente propia)

Grupo (n=2)	Absorbancia 0 h	Absorbancia 168 h	Valor de p
Matrices PVA/CHX 2%.	0.8983	1.1506	0.11075
	0.0053	1.5216	0.05973
	0.1029	1.6112	0.17507
	0.0737	1.6689	0.34141
	0.1643	1.4792	0.26705
	0.1882	1.7122	0.11030
	0.1094	2.1461	0.07873
	0.0446	1.3021	0.14958
	0.1086	1.4193	<b>0.03362*</b>

\*p<0.05. Valor estadísticamente descriptivo.

### **13.Implicaciones bioéticas**

El presente proyecto se realizará mediante evaluaciones *in vitro*, por lo que no causará daños en animales ni en seres humanos.

### **14.Discusión**

El uso de CHX en distintas concentraciones varía con relación al uso de la misma. A concentraciones menores como 0.12 al 0.2% se emplea como colutorios bucales, concentraciones del 0.3 al 1% como desinfectantes de heridas, al 2% como antiséptico de cavidades y conductos radiculares, en concentraciones del 4% para la desinfección preoperatoria del campo quirúrgico.<sup>2</sup>

Según un estudio realizado en la facultad de odontología de Chile, al comparar concentraciones de clorhexidina de 0.1% frente a 0.12% concluyen que la clorhexidina al 0.1% es capaz de tener actividad anti placa y antimicrobiana cuando es usada en colutorios, no siendo necesarias concentraciones más elevadas, lo que disminuye el riesgo de aparición de efectos adversos.<sup>31</sup>

Por otro lado Calsina-Gomis G y Serrano-Granger J<sup>5</sup>. Mencionan que los colutorios con clorhexidina a concentraciones 0.05% parecen tener un adecuado efecto anti placa en los estudios *in vitro* y en los modelos de estudio *in vivo* de corta duración. Sin embargo, no existen ensayos clínicos, de seis meses de duración, que ratifiquen estos resultados preliminares.

En el área de odontología la CHX se usa principalmente como agente anti placa, así como en el área de prótesis en infecciones bucales producidas por prótesis dentales, para el caso de endodoncia como sustancia irrigadora durante tratamientos radiculares, en operatoria para desinfección de cavidades antes de su obturación y en el área de cirugía como prevención de infecciones pre y postquirúrgicas.<sup>3</sup>

Dentro de las infecciones postquirúrgicas más comunes se encuentra la a osteítis alveolar, es una condición local dolorosa que ocurre después de la remoción de un diente. La

incidencia reportada está entre el 1 % y el 3% para todas las extracciones. Sin embargo esta incidencia es mucho más alta después de la remoción quirúrgica de los terceros molares impactados. Dentro de los antisépticos, la CHX ha demostrado ser un buen agente profiláctico de la alveolitis alveolar. El colutorio de CHX al 0.2%, en un estudio realizado por Ragno y Szkutnik<sup>32</sup> produjo una reducción importante de la osteitis alveolar pos extracción de terceros molares retenidos. Pese a que los antibióticos son eficaces en la prevención de la osteitis, tienen un alto costo y generan resistencias, aspectos que limitan su uso. Dentro de los antisépticos, la CHX ha demostrado ser un buen agente profiláctico de la osteitis.

El propósito de elaborar una matriz degradable a base de polivinil alcohol y clorhexidina a distintas concentraciones es el de analizar su eficacia frente a los grupos de bacterias Gram (+) y bacterias Gram (-), aerobios y anaerobios a concentraciones más bajas, las cuales reducen los efectos adversos pero no afecten su eficacia frente a estos microorganismos. Su presentación de matriz nos permite tener un mejor control en cuanto a permanencia dentro del alveolo post extracción. En base a nuestro estudio realizado aceptamos nuestra hipótesis de investigación la cual menciona que las matrices de PVA/CHX inhiben el crecimiento de las cepas de *S. aureus*, *E.coli* y *P. aeuroginosa* en cualquiera de las concentraciones preparadas 2%, 1.5%, 1%, 0.5%, 0.2%, 0.1%, 0.05%, 0.03% y 0.02%. Y la degradación de las matrices se logra en un lapso menor a siete días.

## 15. Conclusión

Se consiguió obtener una matriz mediante el proceso de liofilización, la cual tiene como estructura de soporte al polivinil alcohol y como sustancia activa al gluconato de clorhexidina. Comprobamos su efecto bacteriostático y demostramos que la concentración de CHX no está relacionada con su efecto inhibitorio para ninguna de las cepas estudiadas.

Las concentraciones de CHX que empleamos fueron 2%, 1.5%, 1%, 0.5%, 0.2%, 0.1%, 0.05%, 0.03%, 0.02%, donde la primera demostró un mayor efecto bacteriostático, sin embargo, la diferencia entre las demás concentraciones no resultó significativa.

De manera independiente analizamos el tiempo de degradación para cada una de las matrices a diferentes concentraciones, las cuales lograron degradarse en saliva artificial en un promedio de 68.54% de degradación en un periodo de 7 días.

En base a los resultados obtenidos, las matrices de PVA/CHX a menores concentraciones 0.02%, 0.03%, 0.05% y 0.1% se consideran más adecuadas para su posible aplicación en alveolos post extracción y casos de osteítis para el área de cirugía, así como su uso en lechos quirúrgicos y bolsas periodontales menores a 3 mm para periodoncia.

## 16. Bibliografía

1. Torres López M, Díaz Álvarez M, Acosta Morales A. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en; la estomatología. *Gaceta Médica Espirituana* 2009; 11(1).
2. Bascones Martínez A, Mudarra Morante S, Perea Pérez E. Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. *Av Periodon Implantol.* 2002; 14,3: 101-114.
3. Loe H, Schiott C. The effect of moutrinses and topical application of clorhexidine on development of dental plaque and gingivitis in mano. *Periodont Res* 1970; 5:79.
4. Bascones Martinez A, Mudarra Morante S. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Av Periodon Implantol.* 2006; 18, 1: 31-59.
5. Calsina Gomis G, Serrano Granger J. ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina? Comparación de colutorios. *RCOE* 2005; 10(4):457-464.
6. Maya J, Ruiz S, Pacheco R, Valderrama S, Villegas M. Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. *Infect.* 2011; 15(2): 98-107.
7. Solano E. Preparación prequirúrgica de la piel con clorhexidina al 2% como factor de prevención de la infección en el sitio quirúrgico. *Rev Actual de Costa Rica.* 2014; 26, 1-15.
8. Calvo Flores F, Isac J. Introducción a la química de los polímeros biodegradables: una experiencia para alumnos de segundo ciclo de la ESO y Bachillerato. *An Quim* 2013; 109(1), 38–44.
9. Hernández E, Cruz R, Robledo F, Santoyo L. Caracterización del alcohol polivinílico usado en recubrimientos de base acuosa. *Facultad de farmacia.* 2007; 38, 2.
10. Corredor Bustamante C, Torres Abril A. Microbiología de las lesiones pulpares. *Microbiología.* Facultad de microbiología industrial. Bogotá, 2009.

11. Bascones Martines A, Aguire Urizar J.M. Documento de consenso sobre tratamiento antimicrobiano de las infecciones bacterianas odontogénicas. *Avances Odontoestomatol.* 2005; Vol 21 (6): 311-331.
12. Cervantes García E, García González R, Salazar Schettino P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2014; 61 (1): 28-40.
13. Puerta García A, Mateos Rodríguez F. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Enterobacterias. Servicio de Medicina Interna. 2010; 10(51):3426-31.
14. Ochoa S, López-Montiel F, Escalona G, Cruz Córdova A, Dávila L, López Martínez B, Jiménez Tapia Y, Giono S, Eslava C, Hernández Castro R, Xicohtencatl Cortes J. Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2013; 70(2):138-150.
15. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and Disinfectants: activity, action and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999; 12:147-79.
16. Sánchez L, Sáenz E, Pancorbo J, et al. Antibióticos sistémicos en Dermatología.
17. Mertz PM, Marshall DA, Eaglestein WH. Occlusive wound dressings to prevent bacterial invasion and wound infection. *J Am Acad Dermatol* 1985;12:662-8
18. Grupo Nacional para el estudio y asesoramiento en úlceras por presión y heridas crónicas. Recomendaciones sobre la utilización de antisépticos en el cuidado de heridas crónicas. 2002. Disponible en: [www.gneaupp.org/documento/gneaupp/antiseptico.pdf](http://www.gneaupp.org/documento/gneaupp/antiseptico.pdf). Fecha de consulta: diciembre 2016
19. Parte primera: Betalactámicos, carbapenems, aminoglucósidos, macrólidos. *Dermatol Perú* 2004; 14:7-20.
20. Sánchez Saldaña L, Sáenz Anduaga E. Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peruana* 2005; 15: 82(2).
21. Giacaman R, Muñoz Sandoval C, Bravo González E, Farfán Cerda P. Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral* Vol 6(2); 71-74, 2013.

22. Morales Navarro D, Vila Morales D. Regeneración ósea guiada en estomatología. *Revista Cubana de Estomatología*. 2016; 53 (1).
23. Meza U, Romero Méndez A, Licón Y, Sánchez Armáss S. La membrana plasmática: Modelos, balsas y señalización. *REB* 29(4): 125-134, 2010.
24. Instituto Nacional de Bioingeniería e Imágenes Biomédicas. *Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa*. 2013.
25. Pieper J, Oosterhof A, Dijkstra P, Veerkamp J, Van Kuppevelt T. Preparation and characterization of porous crosslinked collagenous matrices containing bioavailable chondroitin sulphate. Elsevier Science Ltd. All rights reserved. 1999; 847—85.
26. Lie M, Changyou G, Zhengwei M, Jie Z, Jiacong S, Xueqing H, Chunmao H. Collagen/chitosan porous scaffolds with improved biostability for skin tissue engineering. Elsevier. 2003; 4833–4841.
27. Torres Lagares D, Infante Cossio P, Gutiérrez Pérez J, Romero Ruiz M, García Calderón M, Serrera Figallo M. Gel de Clorhexidina intra-alveolar en la prevención de la alveolitis tras la extracción de terceros molares inferiores. Estudio piloto. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006.
28. Cabrera C, Gómez R, Zuñiga A. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colomb Med* 2007; 38: 149-158.
29. Cousido Gonzalez M. Evaluación de la sustentividad de la clorhexidina sobre la flora salival mediante microscopia de epifluorescencia. Tesis doctoral. Santiago de Compostela, 2009.
30. Secado por liofilización. Practicas docentes en la facultad de ciencias. Universidad de Granada. Cod: 10-71.
31. Morante Mudarra S, Bascones Martinez A. Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a la prevención de gingivitis y a la neoformación de placa supragingiva. Tesis doctoral. Madrid, 2003 ISBN: 84-669-2147-8.

32. Torres Lagares D, Infante Cossio P, Gutiérrez Pérez J, Romero Ruiz M, García Calderón M, Serrera Figallo M. Gel de Clorhexidina intra-alveolar en la prevención de la alveolitis tras la extracción de terceros molares inferiores. Estudio piloto. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11:E179-84.
33. Universidad Nacional de Colombia, Instituto de biotecnología. Fundamentos y técnicas para la preservación de bacterias, hongos y levaduras. Bogotá, 2016.