

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA
AREA ENDODONCIA**

**“EFECTIVIDAD DE SOLUCIONES DESINFECTANTES DE USO HABITUAL
SOBRE CONOS DE GUTAPERCHA PREVIAMENTE CONTAMINADOS.”**

Rodrigo Felipe Oyarzún Guíñez

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Marcela Alcota R.

TUTORES ASOCIADOS

**Prof. Dra. Gisela Zillmann G.
Prof. Leyla Gomez C.**

**Santiago - Chile
2007**

“A mi Papá y Mamá, por todo su apoyo y esfuerzo en todos estos años”.

AGRADECIMIENTOS

- A la Prof. Dra. Marcela Alcota, mi más profundo agradecimiento por brindarme la posibilidad de realizar este trabajo y por la ayuda prestada.
- A la Prof. Dra Gisela Zillmann y Prof. Leyla Gomez , por el tiempo dedicado, sus ideas y colaboración en el diseño experimental y en el laboratorio de microbiología.
- A los laboratorios Maver, Hertz y Reutter, por su aporte de materiales para el experimento.
- A la Dra. Andrea Muñoz, por realizar el análisis estadístico.
- A Don Jaime Donoso, asistente técnico del laboratorio, quien amablemente me facilitó las cosas mientras estuve en el laboratorio de microbiología
- A todos aquellos que se interesaron en leer este trabajo para su corrección, especialmente la Dra Irene Rabah.
- Y principalmente a mis padres quienes me dieron su confianza y la gran posibilidad de estudiar mi carrera; a mis hermanos: Liza, la Pol y Carlitos, a mis tíos: la Tella, Pato e Irma, que siempre me han motivado y felicitado, a todos ellos muchas gracias.

ÍNDICE

	Páginas
I. Introducción.....	1
II. Marco teórico.....	4
III. Hipótesis.....	27
IV. Objetivos.....	27
V. Materiales y método.....	29
VI. Resultados.....	45
VII. Discusión.....	49
VIII. Conclusiones.....	55
IX. Sugerencias.....	56
X. Resumen.....	57
XI. Referencias bibliográficas.....	59
XII. Anexo 1.....	67

I. INTRODUCCIÓN

Para el éxito de todo tratamiento endodóntico, es esencial la remoción de todo el tejido pulpar, material necrótico y microorganismos del canal radicular. Ello se logra a través de una estrategia operatoria que incluye una correcta instrumentación, irrigación, medicación tópica y finalmente la obturación tridimensional del sistema de conductos radiculares. ⁽¹⁾

Se ha demostrado que el tratamiento endodóntico fracasa debido a diversas causas presentes durante el procedimiento. ^(2,3) A largo plazo, el fracaso endodóntico se debe principalmente a la presencia o persistencia de microorganismos al interior del conducto, luego de terminado el tratamiento; o a una recontaminación de él ^(4,5). Basmadjian y cols. en 2002 examinaron además otros factores que interferían en el éxito del tratamiento endodóntico a partir de diferentes estudios que abarcaron desde 1982 a enero de 2001, en el se analizó el estado periapical preoperatorio, límite apical de la obturación, calidad de la obturación, diagnóstico pulpar pre operatorio, traspaso a través del foramen apical durante el tratamiento, presencia de una restauración después del tratamiento, técnica de instrumentación, tipo de diente tratado, género y edad de los pacientes, número de sesiones del tratamiento, tipo de irrigación y

presencia de complicaciones durante el tratamiento. En él se enfatiza la dificultad del análisis de los resultados a largo plazo y relacionarlos a las causas del fracaso, pero sugiere la importancia que tiene tomar en cuenta la etiología bacteriana de las infecciones. ⁽⁶⁾

La etapa final del tratamiento del conducto radicular, se realiza usando materiales de obturación que reemplazan al tejido pulpar removido, como las puntas o conos de gutapercha, aún ampliamente utilizadas por el odontólogo, que constituyen el núcleo de la obturación y que se complementan con cementos selladores que se disponen entre ellos y las paredes del conducto. ⁽⁷⁾

Los conos de gutapercha se comercializan en cajas selladas y estériles, condición que se pierde al abrir el dispensador que las contiene cada vez que se realiza una obturación. ⁽⁸⁾ De este modo, es lícito preguntarse si efectivamente los conos de gutapercha al introducirlos al conducto se encuentran libres de una carga bacteriana. Por este motivo es necesario asegurar la desinfección de las puntas mediante la acción de en una solución desinfectante sin alterar la composición y estructura.

Existen estudios que demuestran haber encontrado en conductos necróticos y lesiones apicales refractarias al tratamiento endodóntico, la presencia de *Staphylococcus spp*, *Actinomyces spp*, *Enterococcus faecalis* y *Candida*, que sobreviven debido a la formación de un biofilm. Estos microorganismos podrían colonizar el conducto radicular, entre otras razones, debido a la contaminación cruzada y a la falta de asepsia y no mantención de la cadena de esterilización durante los procedimientos del tratamiento ya que se encuentran en la microbiota normal de la boca.^(9,10,11,12,13)

El propósito de este estudio es evaluar las soluciones más eficientes para la desinfección de los conos de gutapercha, en relación con bioseguridad, durante la obturación de los conductos radiculares, ya que es de vital importancia disminuir la carga bacteriana de los conos de gutapercha a través del uso de distintas soluciones previo a la obturación de los conductos, pues podría contribuir a mejorar el pronóstico y éxito del tratamiento endodóntico.

II. MARCO TEÓRICO:

La terapia endodóntica involucra una serie de pasos, que en estricto rigor deben cumplir con las normas de bioseguridad para asegurar la ausencia de bacterias y por lo tanto evitar la contaminación o recontaminación del conducto radicular. Aún cuando las infecciones endodónticas son polimicrobianas, el concepto de biofilm ha obtenido una atención limitada. Este ha sido discutido principalmente como una aparición bacteriana circundando el ápice de la raíz de dientes con pulpas no vitales, sin embargo, también ha sido descrita su formación al interior del conducto radicular, lográndose la evidencia de varios grupos microbianos en agregación bacteriana, responsable de la resistencia a la terapia en la periodontitis apical y por lo tanto de tratamientos que han fracasado. ^(14,13)

Según Adib y col. el grupo predominante encontrado en biofilms asociados a conductos radiculares pertenece a los anaerobios facultativos Gram positivo como los son *Staphylococcus spp* y *Enterococcus spp*, siendo luego los *Actinomyces spp* los segundos más prevalentes⁽⁹⁾, junto con algunos estudios que han reportado la presencia de *Candida albicans*. ^(10,15)

Especies bacterianas

Staphylococci:

Los *Staphylococcus* spp son células esféricas, cuyo tamaño oscila de 0,5 a 1 μm de diámetro, que generalmente se agrupan en racimos, son Gram(+) y aerobios facultativos. Crecen rápidamente en varios medios de cultivo, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían del blanco al amarillo oscuro. Son miembros de la flora normal de la piel humana, tracto gastrointestinal, respiratorio y membranas mucosas. ⁽¹⁶⁾

El Staphylococcus Aureus, quizás el representante más patógeno, forma colonias de color que van desde el gris al amarillo oscuro, hemoliza sangre, coagula plasma y produce una variedad de enzimas extracelulares y toxinas. Patógeno para los humanos, causa infecciones con presencia de abscesos y origina neumonía, meningitis, endocarditis y septicemia. ⁽¹⁷⁾

Enterococci :

Enterococcus faecalis es una bacteria anaerobia facultativa, coco Gram (+), que puede aparecer solo, en pares o formando cadenas cortas. Normalmente habita y se adapta al complejo medio ambiente de la cavidad oral

y tracto gastrointestinal. Logra sobrevivir en medios ambientes extremadamente alcalinos y altas concentraciones de sal. Es resistente a detergentes, metales pesados, etanol, ácidos y desecación. Logra invadir los túbulos dentinarios a pesar de sufrir privación nutricional. ⁽¹³⁾

Este microorganismo es comúnmente encontrado en infecciones endodónticas asintomáticas y persistentes, logrando una prevalencia que va desde el 24% al 74%. ⁽¹³⁾

Ha sido ocasionalmente detectado en infecciones de tipo primaria de las raíces, pero también en varios casos de infecciones persistentes y mayoritariamente en aquellos tratamientos que han fracasado. ^(5, 9, 12, 13)

Los factores de virulencia que posee incluyen enzimas líticas, citolisinas, sustancias agregadoras y ácido lipoteicoico siendo, además, capaz de suprimir la acción linfocitaria. Debido a su habilidad de formar parte de biofilms, es más resistente a la destrucción, permitiendo a la bacteria eludir 1000 veces más la fagocitosis, anticuerpos y antibióticos que aquellos organismos que no forman biofilms. ⁽¹³⁾

Actinomyces

El *Actinomyces* es un bacilo Gram positivo, anaerobio facultativo, habitante común de la cavidad oral y ha sido aislado de criptas tonsilares, cálculo dental, dentina cariada, crévice gingivales, sacos periodontales, tejidos periapicales, conductos radiculares infectados, tracto gastrointestinal y respiratorio. Como posee una baja virulencia, debe estar acompañado de otros microorganismos para producir infección, ya que carecen de hialuronidasas. Su pared celular es capaz de producir reacciones inflamatorias, induciendo un infiltrado severo de neutrófilos a nivel pulpar y periapical. ⁽¹¹⁾ Existen distintas especies de *Actinomyces* que afectan al hombre: *A. israelii*, *A. viscosus*, *A. odontolyticus*, *A. naeslundii*.

Candida

Las especies de *Candida* son hongos de tipo levaduras de forma ovalada y Gram (+). La lengua es el reservorio oral primario donde las papilas dan una gran superficie para la adherencia de *Candida* y posiblemente es la que protege de la remoción durante la masticación y deglución. Una de la más estudiada es la *Candida albicans* que puede reproducirse por yemación (blastoesporas) ^(10,18)

Los hongos han demostrado poseer atributos que pueden jugar un rol importante en las enfermedades, y el mecanismo que involucran su patogenicidad son su adaptabilidad a los cambios ambientales, una adhesión a superficies, producción de enzimas hidrolíticas, transición morfológica, formación de biofilms y evasión de respuesta del hospedero. ⁽¹⁰⁾

El género más común es la *Candida albicans* que muestra distintos patrones de infección de la dentina, ya sea como una leve colonización de la superficie sin penetración a los túbulos dentinarios o con algunas áreas cubiertas con colonias a lo largo del conducto e incluso túbulos dentinarios muy infectados. ^(15,18)

Se ha demostrado que este microorganismo habita comúnmente en la cavidad bucal, y que co - agrega con otras bacterias, por ejemplo *Actinomyces* que interactúa con carbohidratos y proteínas de la superficie de la *Candida* así como también con *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, pero curiosamente no con *Enterococcus faecalis*. ^(10, 19)

Necesidad de descontaminación de conos de gutapercha

La esterilización de los instrumentos y materiales endodónticos es esencial para mantener la cadena de asepsia y prevenir la introducción de microorganismos al interior de los conductos radiculares.⁽⁷⁾

Dado las características de los conos de gutapercha, es imposible esterilizarlos por calor seco y/o húmedo, y a un bajo costo. Es claro, además, que la condición de esterilidad que los conos de gutapercha presentarían desde sus empaques de fábrica, se pierde al exponer los dispensadores al medio ambiente.

Montgomery y col. utilizando conos de gutapercha estériles, los entregó a diez odontólogos diferentes, quienes los giraron entre sus dedos cubiertos por guantes de goma, con el objeto de identificar que tipo de microorganismos produciría contaminación durante su manipulación manual y cuál sería la acción de la polivinilpirrolidona iodada como desinfectante ante estas bacterias. En los resultados obtenidos en este estudio identificó *Streptococcus mitis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Flavobacterium difussum*, *Bacilos fusiformes* y *Peptostreptococcus*, siendo factible que los conos de

gutapercha presenten algún grado de contaminación bacteriana al momento de introducirlos al canal radicular. Concluyendo, además, que cuatro minutos de inmersión de los conos en éste antiséptico resultó ser sumamente eficaz para la eliminación de ellas.⁽⁸⁾

No hay consenso respecto del desinfectante ni del tiempo necesario para descontaminar los conos de gutapercha, pero si se ha descrito el uso de distintas soluciones en distintas concentraciones.^(20, 21, 22)

Se ha demostrado que el Hipoclorito de sodio al 5,25%, la clorhexidina al 2%, alcohol de 50° , alcohol de 70°, y tabletas de paraformaldehído, como descontaminantes de conos de gutapercha a tiempos de 10 y 60 minutos, fueron efectivos sobre 10 minutos de inmersión a excepción del paraformaldehído⁽²¹⁾, sin embargo, existen reportes donde se sometió a grupos de conos de gutapercha en condiciones de almacenaje por 60 días, simulando el uso diario de ellos, y luego fueron divididos en grupos para descontaminarlos con clorhexidina al 0,12%, agua de cal, alcohol de 90° y cloruro de lapirio a los tiempos de 10 y 30 minutos cada uno, describiéndose crecimiento de bacterias en todos los casos y encontrando *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, y hongos pluricelulares como *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*.⁽²³⁾

También se ha comparado la acción de glutaraldehído al 2 % y Sporcidin con el hipoclorito de sodio al 5,25% sobre conos contaminados con cepas de *Bacillus subtilis* y se ha concluido que el hipoclorito es superior en su efecto esporicida a 1 minuto de acción.⁽²⁴⁾ Siqueira y colaboradores en 1998 lograron similares resultados, pero ellos estudiaron, además, la efectividad de la clorhexidina al 2% y el alcohol de 70°, no obteniendo resultados satisfactorios para estos últimos después de 10 minutos de sumergidos.⁽²⁵⁾

Además, se ha estudiado la efectividad de distintas concentraciones a partir de diluciones de hipoclorito de sodio (0,25%; 0,5%; 1%; 2%, 4%) sobre dos marcas de conos de gutapercha contaminadas artificialmente por 30 minutos, con cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Bacillus subtilis*. En este estudio, las concentraciones de hipoclorito de sodio sobre 1% en un tiempo mayor al minuto fueron efectivas para descontaminar los conos de gutapercha para esas cepas.⁽²⁶⁾

Por otro lado Da Motta y col, comprobaron la acción de glutaraldehído al 2,2% y hipoclorito de sodio al 5,25% sobre conos de gutapercha previamente contaminados concluyendo que no hubo presencia de crecimiento en los conos que fueron sumergidos por 10 horas en glutaraldehído y 5 minutos en

hipoclorito, pero actualmente debido a la alta toxicidad demostrada para el glutaraldehído a pesar de ser desinfectante con poder de esterilización ha sido descartado para el uso clínico. ⁽²²⁾

Soluciones antisépticas y desinfectantes

Se ha estudiado el efecto de los antisépticos y químicos para reducir las cargas bacterianas no solo en la cavidad oral, sino también en el resto del cuerpo humano, además de las superficies. Pero comúnmente se habla de antisépticos cuando se refiere a soluciones que inhiben o impiden el crecimiento de microorganismos para ser utilizados sobre tejidos vivos como piel y mucosas, y por el contrario se habla de desinfectantes cuando son sustancias que eliminan o inhiben el desarrollo de microorganismos en elementos inertes. ⁽²⁷⁾

Aun cuando las soluciones más usadas son la clorhexidina, el hipoclorito de sodio y el alcohol en distintas concentraciones y presentaciones, no se ha establecido claramente la solución más efectiva, ni el tiempo necesario para desinfectar los conos de gutapercha.

Clorhexidina

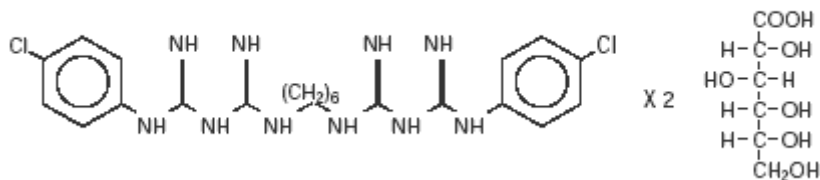
Se ha utilizado por más de 30 años, en los inicios de los setenta fue incorporada al 0,2% en forma de colutorios en Europa y en 1986 fue incorporado al 0,12 % en los colutorios de Estados Unidos.

Estructura Química de la Clorhexidina

La Clorhexidina es químicamente una Bis-guanidina catiónica. La forma más estable es de sal y es comercializada comúnmente como una sal de digluconato por su alta solubilidad en agua. ⁽²⁸⁾

Es una molécula simétrica consistente en dos anillos 4 clorofenil y dos grupos Bisguanidas conectados por una cadena central de hexametileno.

Su fórmula estructural es:



Presentaciones:

Existen distintas presentaciones de Clorhexidina como geles, barnices, aerosoles (spray) microships, chicle, comprimidos, tabletas, y en seda dental. Pero la forma más común usada es en colutorios en concentraciones: 0,1%, 0,12%, 0,2%, 1% y 2%.⁽²⁹⁾

Dentro de sus características se destacan su gran peso molecular, baja toxicidad, pH fisiológico, sustentividad, agente antimicrobiano de amplio espectro y alto costo.⁽²⁸⁾

Mecanismo de acción

La Clorhexidina a pH fisiológico, distribuye su carga positiva sobre los átomos de hidrogeno en ambos lados del puente hexametileno y así tiene la habilidad de asociarse a las superficies cargadas negativamente como la hidroxiapatita del esmalte, la película adquirida y las proteínas salivales.⁽³⁰⁾

Su efecto antimicrobiano se debe a que se une a los grupos fosfatos aniónicos de los lípidos de la pared celular de las bacterias y polisacáridos

extracelulares de origen bacteriano ⁽²⁸⁾ (la cantidad absorbida depende de la concentración), a los cuales les cambia la estructura integral. La adsorción de ésta va a causar una alteración en la movilidad electroforética de todo microorganismo. ⁽³⁰⁾

A bajas concentraciones actúa en la bacteria liberando sustancias de bajo peso molecular como iones potasio y fósforo, e interfiere con la función de la membrana en la actividad de la síntesis de ATP. Este efecto bacteriostático es reversible ya que la célula bacteriana utiliza neutralizadores que remueven la Clorhexidina. A altas concentraciones se presenta una precipitación del contenido citoplasmático por alteración del equilibrio osmótico celular. ⁽³¹⁾ Así la Clorhexidina puede ejercer una acción bactericida cuando la concentración se eleva. En este caso habrá una disminución en la salida de los componentes de bajo peso molecular provocando coagulación con precipitación citoplasmática. Sin embargo, la característica principal de su capacidad bactericida, es la unión a las proteínas a través de los grupos carboxilos y a otras moléculas con grupos similares (fosfatos), lo cual inhibe las funciones biológicas relacionadas, lo que es irreversible. ⁽³⁰⁾

Actividad antimicrobiana

La clorhexidina es activa contra un gran rango de microorganismos tanto Gram (+) como Gram(-), levaduras, anaerobios facultativos y aerobios. Sin embargo, no tiene actividad frente a esporas, ni virus. ⁽³⁰⁾

A bajas concentraciones la clorhexidina tiene un efecto bacteriostático y a concentraciones mayores ésta se vuelve bactericida. Aún así, cada tipo de microorganismo puede presentar variaciones en su susceptibilidad. ⁽²⁸⁾

Gusbeti comparó resultados en cuanto a la efectividad de colutorios de peróxido de hidrógeno y clorhexidina, observando que 71% de *Streptococcus* facultativos fueron reducidos por la clorhexidina y que existía un mayor efecto sobre la familia de *Actinomyces* como *A. viscosus* (99,9%) y *A. naeslundii*. ⁽³²⁾

La acción antimicrobiana de la clorhexidina es el resultado de la absorción en la pared celular de los microorganismos, causando la filtración de sus componentes celulares. ^(33,34,29)

A nivel endodóntico Siqueira encontró que el gel de Clorhexidina al 0,12% inhibió cepas bacterianas anaerobias estrictas y facultativas comúnmente presente en conductos endodónticos *in vitro*.⁽³⁵⁾ Posteriormente D'Arcangelo (1999) evaluó diferentes irrigantes sobre anaerobios estrictos, facultativos y microaerofílicos, mostrando que la Clorhexidina al 0,2% tuvo efecto bactericida.⁽³⁶⁾

Toxicidad

Estudios *in vivo* sugieren que el uso de la Clorhexidina al 2% para la irrigación subgingival no es tóxico para el tejido periodontal, un factor que también justifica su uso como irrigante y solución antiséptica en términos de biocompatibilidad, además de su larga actividad residual.^(37,38)

Aún así, se han descrito lesiones descamativas en la mucosa luego de colutorios al 0,2%, esta descamación de células puede ocurrir más frecuentemente con altas concentraciones de clorhexidina (Flötra citado por Bascones).^(33, 29)

Hipoclorito de Sodio

Los hipocloritos corresponden a las soluciones de desinfección más usadas. El hipoclorito de sodio fue recomendado por primera vez como solución antiséptica por Henry Darwin para la irrigación de heridas de los soldados durante la primera Guerra mundial, y fue Crane posteriormente quién describió dicha solución para la terapia endodóntica. ⁽³⁹⁾

Mecanismo de Acción:

El hipoclorito de Sodio (NaOCl) es una sal formada de la unión de dos compuestos químicos, el ácido hipocloroso y el hidróxido de sodio que ejerce su acción germicida debido al ácido hipocloroso no disociado. En las soluciones neutras o ácidas el ácido hipocloroso no se disocia predominando la forma no disociada (HOCl). En las soluciones alcalinas permanece en forma iónica disociada (estable y menos activa). La acción se debe a que el cloro activo produce la oxidación irreversible de los grupos sulfhídricos de enzimas esenciales interrumpiendo el funcionamiento metabólico de la célula bacteriana. Al producirse la acción anterior se genera un nuevo compuesto del grupo de las

cloroaminas, soluble en agua que posee un alto poder desinfectante que es proporcional a la concentración de cloro activo presente en la solución. ⁽⁴⁰⁾

El pH de la solución altera la gradiente de la membrana bacteriana, al desnaturalizar las proteínas de la membrana citoplasmática, alterando su integridad. ⁽⁴⁰⁾

El ácido hipocloroso presente en la solución de hipoclorito de Sodio actúa como solvente al contactar con tejido orgánico, libera Cloro que se combina con grupos de aminoácidos proteícos y se forman cloraminas, que provocan la degradación e hidrólisis de los aminoácidos. ⁽⁴⁰⁾

El ión cloro (fuerte oxidante) inhibe a su vez enzimas bacterianas mediante una oxidación irreversible. Finalmente la disolución tisular ocurre por una saponificación del hipoclorito de Sodio, donde los ácidos grasos y lípidos son degradados y se generan como productos jabón y glicerol. ⁽⁴⁰⁾

Capacidad de disolución.

Cuando el hipoclorito de sodio entra en contacto con la materia orgánica se producen una serie de reacciones que son responsables de la disolución de los tejidos, produciendo la degradación de los ellos. ⁽⁴⁰⁾

Mientras mayor es la concentración inicial, menor es la reducción del pH. Es sabido que el elevado pH inicial de la solución se debe a la fuerte alcalinidad del hidróxido de sodio, que es una base fuerte, tornando el medio lleno de hidroxilos. El descenso de pH que se produce en la solución, se debe a la interacción del hidróxido de sodio con la materia orgánica. ⁽⁴⁰⁾

Concentración y citotoxicidad.

Durante años ha sido controversial la concentración ideal que debe tener el hipoclorito de sodio y si éste debe utilizarse solo o en combinación con alguna otra solución. Pero está claro que el problema de disminuir la concentración también afecta directamente la densidad, el pH, viscosidad, capacidad de humectancia y conductividad como lo demostró Guerisoli (1998).⁽⁴¹⁾ También se ha demostrado que el hipoclorito es citotóxico para las

bacterias por lo que el efecto antimicrobiano es dependiente de la concentración mientras otros factores permanezcan constantes (pH, temperatura, contenido orgánico).⁽⁴²⁾

Como irrigante endodóntico se ha descrito que la concentración más efectiva es al 5.25 %, mientras que decae su espectro a medida que la concentración es reducida.⁽⁴³⁾

Se ha reportado que el material orgánico en contacto con la solución de hipoclorito de sodio puede consumir el cloro disponible y reducir la capacidad antimicrobiana⁽⁴²⁾, esto sería evidente en soluciones de menor concentración. En cuanto al tiempo Radcliffe relata que soluciones de 0,5% necesitarían 30 minutos para asegurar el efecto bactericida sobre ciertas cepas⁽³⁾, mientras que otros investigadores aseguran que toda la potencia era eficaz contra anaerobios en 5 minutos.⁽⁴⁴⁾

Efecto de la temperatura.

La temperatura influye en las propiedades del hipoclorito, ejemplo de ello es que cuanto mayor es la concentración, mayor es la disolución y también lo

será al aumentar la temperatura. Y la capacidad de disolver tejido colágeno también se potenciará.^(45, 44)

Con el aumento de la temperatura se ha observado una reducción del cloro residual. Esto se debe a la mayor interacción del ácido hipocloroso con la materia orgánica, lo que produce un mayor consumo de cloro, que se libera en estado gaseoso.⁽⁴⁵⁾

Piskin y Türküm (1996) investigaron el efecto de la temperatura, concentración y tiempo en la estabilidad del hipoclorito. Encontraron que todas las soluciones mostraron una degradación versus tiempo. Mas aún, esta degradación ocurrió muy lentamente excepto para el grupo que contenían 5% de cloro disponible a 24°C.⁽³⁹⁾

También se ha descrito el comportamiento del hipoclorito al 5,25% a temperaturas de 21° y 37°, concluyendo que el incremento de la temperatura no aumenta la eficacia antibacteriana.⁽⁴⁴⁾

A pesar de ello, se ha encontrado que el hipoclorito es efectivo contra *Porphyromona gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Staphylococcus aureus*,

Streptococcus salivarius, *Capnocytophaga ochracea*, *Wolinella recta*,
Peptostreptococi, *Bacteroides subtilis*, *Porphyromona aeruginosa*, *Candida*
albicans, *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces israelii* y *Actinomyces naeslundii*.

(43, 40, 46, 47, 42)

Alcohol:

Los alcoholes (etanol o alcohol etílico, alcohol isopropílico) son compuestos orgánicos del agua, conocidos desde la antigüedad, y usados en medicina como antisépticos en desinfección de heridas, y como desinfectante de superficies clasificado de nivel intermedio.^(48,27)

Mecanismo de acción

Los alcoholes actúan destruyendo la membrana celular al desnaturalizar las proteínas. Su eficacia está basada en la presencia de agua, ello se debe a que estos compuestos penetran mejor en las células y bacterias dañando a la membrana y provocando la rápida desnaturalización de las proteínas, con la consiguiente interferencia con el metabolismo y lisis celular. Su acción es rápida, incluso desde los 15 segundos aunque no tiene efecto persistente.⁽²⁷⁾

El alcohol se inactiva rápidamente en contacto con materia orgánica al coagular las proteínas, las que después actúan protegiendo a los microorganismos alojados en su interior.

Su bajo costo y excelente efectividad de acción, hacen de esta solución una muy buena alternativa para la desinfección de la piel en la mayoría de los procedimientos invasivos de corta duración. Por ejemplo punciones vasculares periféricas, administración de medicamentos por vía intramuscular y subcutánea. ⁽⁴⁸⁾

El alcohol es un agente volátil, por esta razón, y para que mantenga sus propiedades en óptimas condiciones, debe mantenerse almacenado en receptáculos tapados y sin exposición al calor o al sol. No hay que olvidar que también es un producto inflamable, por lo que se debe dejar secar completamente si se utiliza en antisepsia del campo quirúrgico y si se va a utilizar el bisturí eléctrico sobre éste. ⁽⁴⁸⁾

Para uso clínico se encuentra vigente el Alcohol etílico o isopropílico (70° - 90°), ampliamente recomendado para la desinfección de ampollas, tapas de

medicamentos y termómetros, entre otros. El alcohol actúa por frotación de las superficies de los artículos. ^(48,27)

Actividad antimicrobiana

Sustancia química de amplio espectro frente a gérmenes Gram positivos, Gram negativos, *Mycobacterium tuberculosis*, Hongos y Virus. Su acción germicida al entrar en contacto con microorganismos de la piel es prácticamente inmediata, no así su efecto residual que es muy corto. Son capaces de eliminar bacterias en sus formas vegetativas, virus incluido hepatitis B y hongos, sin embargo, la diferencia con los desinfectantes de alto nivel es que éste no elimina esporas. ^(48,27)

De acuerdo a los antecedentes expuestos, resulta imprescindible cumplir durante la realización del tratamiento endodóntico, con las normas de bioseguridad, asegurando la desinfección de los conos de gutapercha para evitar la contaminación del conducto. Sin embargo, los estudios en este aspecto han investigado soluciones que han dejado de utilizarse y cuyas concentraciones han sido sometidas a tiempos clínicos inaplicables, con grupo de cepas de nulo recuento al interior de los conductos. Por este motivo, este

trabajo pretende estudiar, *in vitro*, la efectividad de las soluciones de gluconato de clorhexidina al 2%, hipoclorito de sodio al 5,25% y alcohol de 70°, y determinar cuál de ellas es la más apropiada en la desinfección de los conos de gutapercha, contaminados con cepas bacterianas tipo.

Las cepas tipo utilizadas corresponden a microorganismos puros (ATCC), bajo el concepto de que ellas se logran identificar en mayor proporción en los conductos radiculares afectados por fracasos endodónticos.

III. HIPÓTESIS

“La desinfección con gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% presentan una diferencia estadísticamente significativa comparada con el alcohol de 70° sobre los conos de gutapercha previamente contaminados.”

IV. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Evaluar la efectividad *in vitro* de distintas soluciones desinfectantes a una concentración conocida sobre los conos de gutapercha previamente contaminados con cepas microbianas, en relación a tiempo y desinfección.

Objetivos Específicos:

- Verificar la ausencia de contaminación de conos de gutapercha de una marca comercial conocida en empaques sellados desde su fabricación.

- Comparar la efectividad de gluconato de clorhexidina al 2 %, hipoclorito de sodio al 5,25 %, alcohol de 70° sobre los conos de gutapercha previamente

contaminados con cepas microbianas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces viscosus*, *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* .

- Establecer un tiempo mínimo necesario de inmersión de los conos de gutapercha en la solución desinfectante para lograr una completa desinfección de los conos de gutapercha.

- Identificar la solución desinfectante más apropiada para desinfectar en forma efectiva a los conos de gutapercha

V. MATERIAL Y MÉTODO

Conos de gutapercha y Soluciones desinfectantes.

Se utilizaron conos de gutapercha estandarizados Dentsply Maillefer número 40 que se utilizan para la obturación de conductos radiculares, empaquetados de fábrica.(Fig1)



Fig. 1. Conos de gutapercha Dentsply Maillefer n° 40 estandarizados.

Las soluciones desinfectantes que se ocuparon fueron Hipoclorito de Sodio al 5,25% (Laboratorios Hertz), Gluconato de Clorhexidina al 2% (Oralgene Pro, Laboratorios Maver) y Alcohol de 70° (Reutter).



Fig. 2 Soluciones desinfectantes.

Cepas Bacterianas.

Se utilizaron cepas ATCC (American Type Culture Collection) adquiridas en el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) las cuales fueron solicitadas por intermedio del formulario correspondiente, disponible en el sitio Internet de dicha entidad pública (anexo 1).⁽⁴⁹⁾

Las cepas empleadas fueron *Candida albicans* (ATCC10231), *Enterococcus faecalis* (ATCC29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) y *Actinomyces viscosus* (ATCC19246).

Procedimiento previo a la contaminación.

Cultivo y crecimiento de las cepas bacterianas

Bajo campana de bioseguridad (Filtro Met, modelo BS24242 II A), se sembró cada cepa en 5 ml de caldo Todd Hewitt (DIFCO™), y se incubaron en estufa (LAB TECH, Modelo LBI 250M) *Candida albicans* (ATCC10231), *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) y *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) en condiciones de aerobiosis a 36°C por 48 horas, mientras que *Actinomyces viscosus* (ATCC19246) se incubó a 36°C por 96 horas en condiciones de anaerobiosis en Jarra Gas Pack con generadores Anaerogen (Oxoid). Luego de verificar el crecimiento se realizó un frotis y tinción de Gram, siendo observadas en microscopio óptico 1000X (Zeiss, modelo AXIOSTAR Plus) para confirmar pureza de los cultivos. Figs. 3, 4,5,6

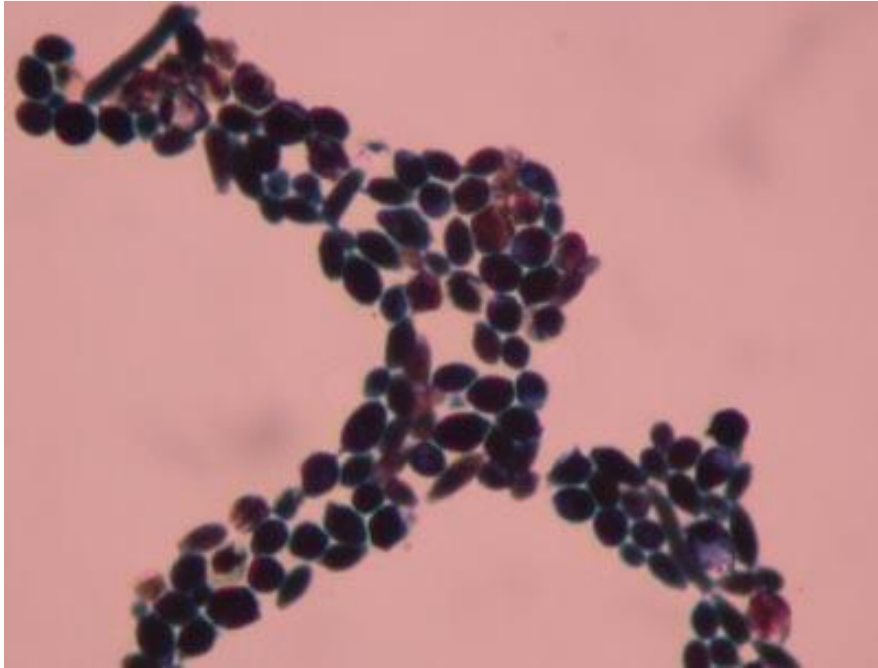


Fig. 3 Candida albicans (ATCC10231).

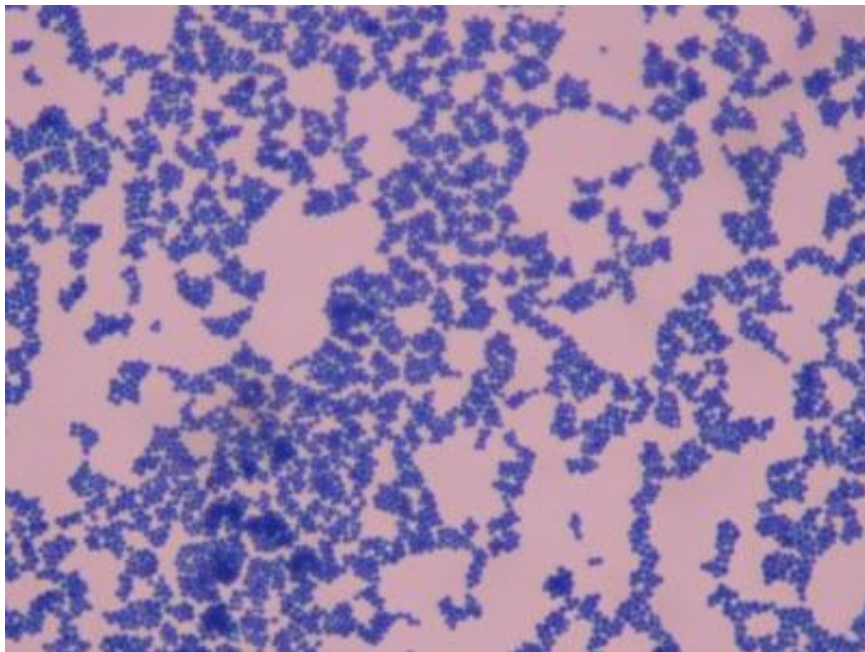


Fig. 4 Staphylococcus aureus (ATCC25923).

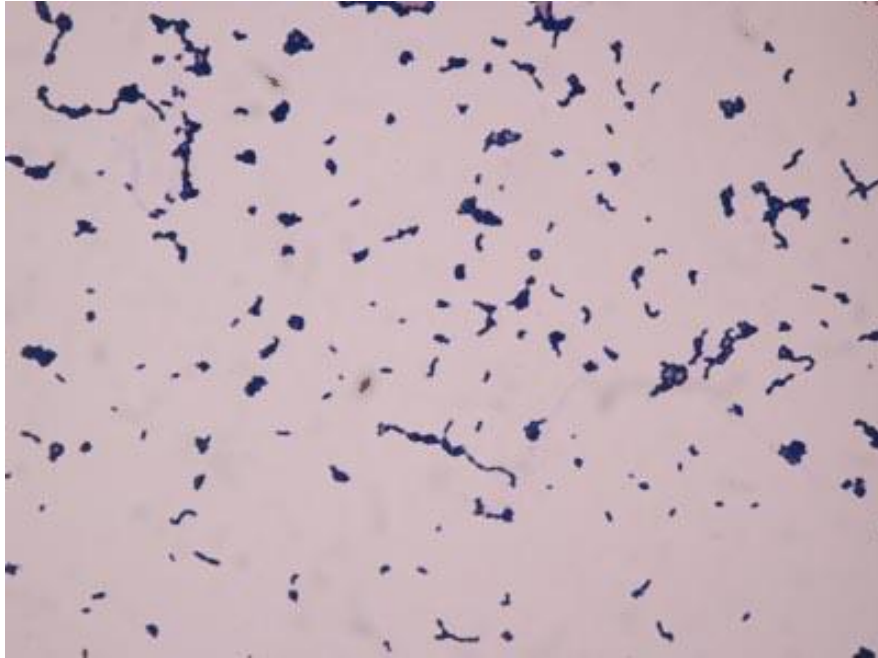


Fig. 5 Enterococcus faecalis (ATCC29212).

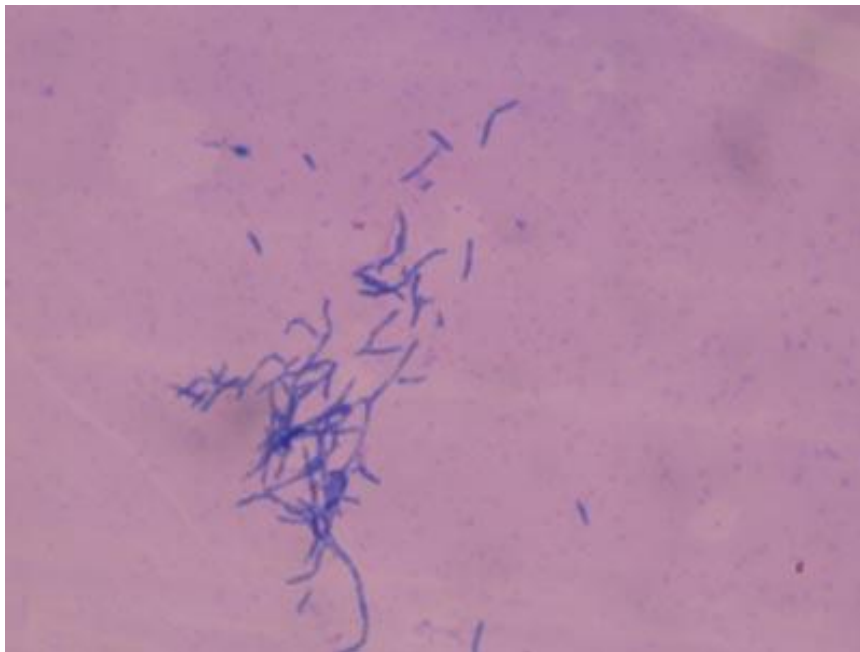


Fig. 6 Actinomyces viscosus (ATCC19246).

Se separó 1 ml de caldo de cada una de las cepas y se criopreservó en viales con glicerina estéril a -20°C , para mantener y guardarlas.

Además, cada cepa ATCC crecidas en caldo Todd Hewitt fue sembrada en medios de cultivo especiales sólidos para su desarrollo con el fin de obtener colonias aisladas.

Para siembra y aislamiento de colonias de las cepas empleadas se usaron los siguientes medios de cultivo: Agar Sabouraud (DIFCO™) más Cloranfenicol (Lab. Chile) (0,5 mg/ml) para *Candida albicans* (ATCC 10231); Agar Columbia (DIFCO™) Hemina-Menadiona que contenía sangre Humana al 5%, 0.0001% Menadiona y 0.0005 % de Hemina para *Actinomyces Viscosus* (ATCC 19246); Agar Manitol Salt (OXOID) para *Staphylococcus Aureus* (ATCC 25923) y Agar Sangre no selectivo, preparado a base Trypticase Soy Agar (DIFCO™) 4grs cada 100 ml, agar – agar (DIFCO™) 0,8grs cada 100 ml, y sangre Humana al 5% para *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Estos medios de cultivo fueron preparados en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, según las especificaciones del fabricante y posteriormente fueron dispensados en

placas de Petri pequeñas bajo campana de bioseguridad. Después de preparados y dispensados, se realizó control de calidad (ausencia de crecimiento bacteriano contaminante durante la preparación del medio). Una vez sembrados los medios se incubó a 36°C en estufa según los tiempos antes descritos para cada cepa ATCC.

Luego, se prepararon nuevamente estos medios y fueron dispensados en placas de Petri pequeñas, marcándose con lápiz permanente una línea divisora, de tal forma que en cada una de ellas fueron depositados posteriormente dos conos sometidos a descontaminación, uno al tiempo de 1 minuto y en la otra mitad al tiempo de 3 minutos como muestra la figura 7.

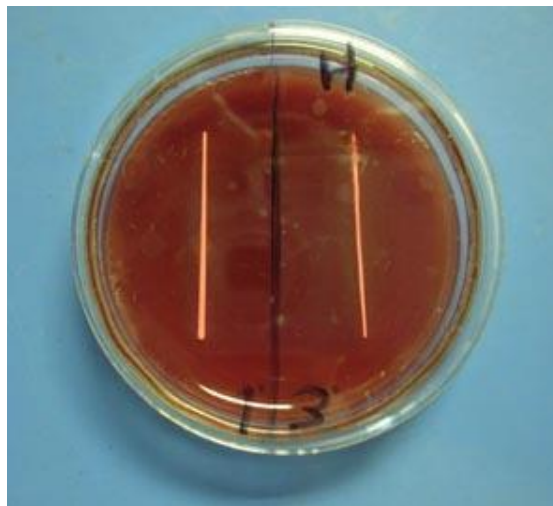


Fig. 7 Placa de Petri con Agar Columbia Hemina Menadiona para *Actinomyces viscosus*.

Preparación de medio contaminante

Pasado el tiempo de incubación se sembró una colonia aislada de cada cepa en forma independiente en caldo Todd Hewitt, estos se cultivaron en estufa a 36°C procediendo de la misma forma ya descrita para cada cepa. (fig. 8)

Se prepararon de esta forma baterías de 6 tubos de caldo por cada cepa bacteriana para contaminar conos de gutapercha.



Fig. 8 Siembra en caldo Todd Hewitt a partir de colonias aisladas.

Se ajustó el tiempo de incubación para obtener un crecimiento medido según los patrones de turbidez Mc Farland (BIOMÉRIEUX S.A.) el cual permite estimar la densidad de suspensiones microbianas. Para este estudio se empleó patrón Mc Farland 5, equivalente a una concentración de 1500×10^6 UFC/ml.

Los cultivos en caldo Todd Hewitt así obtenidos de cada una de las cepas se utilizaron para contaminar los conos de gutapercha y, antes de ello, a cada una de las siembras se les realizó un frotis y tinción de Gram para verificar la pureza del cultivo.

Grupo control negativo.

Para verificar la ausencia de contaminación del producto antes de utilizarlo, se tomaron 6 conos de cada dispensador individual desde un empaque nuevo y se sembraron en medio de cultivo Todd Hewitt y fueron llevados a estufa a 36° C por 24 horas.

Grupo control Positivo.

Para comprobar la presencia de contaminación efectiva, se procedió a contaminar los conos con cada cepa en forma independiente, durante 1 minuto y luego de secar suavemente en papel estéril absorbente, se sumergió cada cono en agua destilada estéril, como solución inocua para las cepas, a los tiempos de 1 minuto y 3 minutos, para posteriormente sembrarlos en la placa de Petri con el medio específico según la cepa con que se realizó la contaminación (fig. 9)

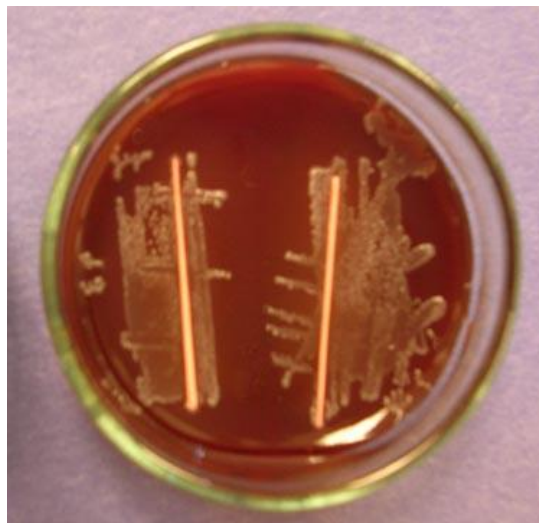


Fig. 9 Control positivo para *Enterococcus faecalis* (ATCC29212)

Grupo Experimental

Procedimiento de contaminación de conos de gutapercha.

60 conos de gutapercha se contaminaron durante 1 minuto por cada cepa bacteriana desarrollada en caldo Todd Hewitt. Las suspensiones fueron renovadas durante la contaminación para evitar posible disminución de la carga bacteriana teórica. Luego se retiraron los conos de la suspensión bacteriana y fueron puestos en papel absorbente estéril por 30 segundos.

Proceso de descontaminación de los conos de gutapercha y evaluación de crecimiento.

Después de secados, se sumergieron 60 conos contaminados en placas de Petri que contenían 5 ml de gluconato de clorhexidina al 2%. Esta misma operación se realizó con Hipoclorito de sodio al 5,25% y con Alcohol de 70°.

Se retiraron 30 conos de gutapercha al tiempo de 1 minuto y 30 conos al tiempo de 3 minutos, de cada uno de los desinfectantes, luego se secaron suavemente en papel absorbente estéril y cada cono se depositó en el medio

de cultivo sólido preparados con anterioridad y específico para la cepa con la cual se habían contaminado los conos.(Fig. 10)

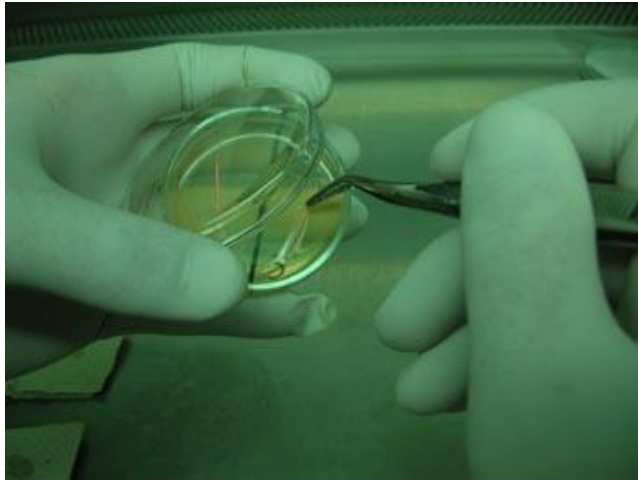


Fig. 10 Siembra de conos descontaminados a los tiempos de 1 y 3 minutos.

Estos medios fueron incubados según las condiciones para cada cepa utilizada. Los medios de cultivo que contenían los conos contaminados en forma independiente con *Candida albicans* (ATCC10231), *Enterococcus faecalis* (ATCC29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) fueron llevados a estufa a 36° C por 48 horas en aerobiosis, mientras que *Actinomyces viscosus* (ATCC19246) se incubó a 36°C por 96 horas en anaerobiosis con Jarra Gas Pack y generadores Anaerogen (Oxoid).

El Agar Manitol Salt, es un medio de cultivo nuevo selectivo e indicador para *Staphylococcus* ya que torna de color el medio dependiendo del metabolismo de la subespecie que contenga, de esta forma, *S aureus* vira de color rojo a amarillo el medio. (Fig. 11)

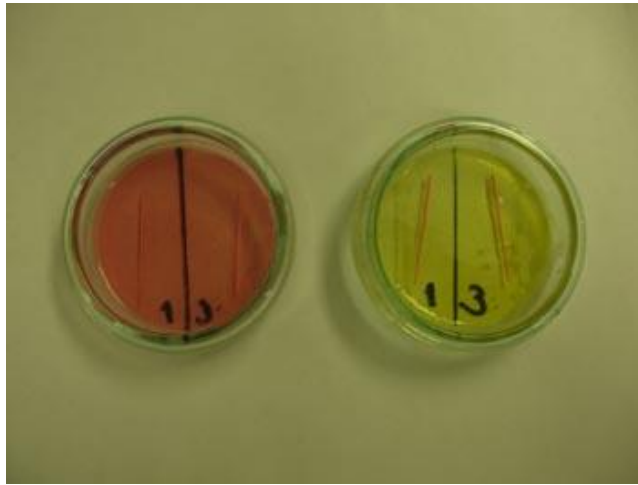


Fig. 11 Agar Manitol Salt (DIFCO™) con *S. Aureus*

Pasado el tiempo de incubación se observó las placas a ojo desnudo y bajo Lupa (Zeiss, modelo Stemi 2000 – C, fuente de luz Zeiss modelo SCHOTT kl1500). A aquellas que presentaron desarrollo se les realizó frotis y tinción de Gram.

Para evitar la contaminación cruzada entre las diferentes cepas bacterianas se trabajó cada vez con una cepa en forma separada para infectar los conos.

Se usaron 180 conos a contaminar por cepa, dividiéndose estos para la etapa de descontaminación en 60 conos con gluconato clorhexidina al 2%, 60 conos con Hipoclorito de sodio al 5,25% y 60 conos con Alcohol de 70°; cada grupo a su vez se dividió según los tiempos de inmersión en el desinfectante a 1 minuto y a los 3 minutos.

En la Figura 12 se muestra el resumen explicativo del procedimiento utilizado para la contaminación y descontaminación de los conos de gutapercha.

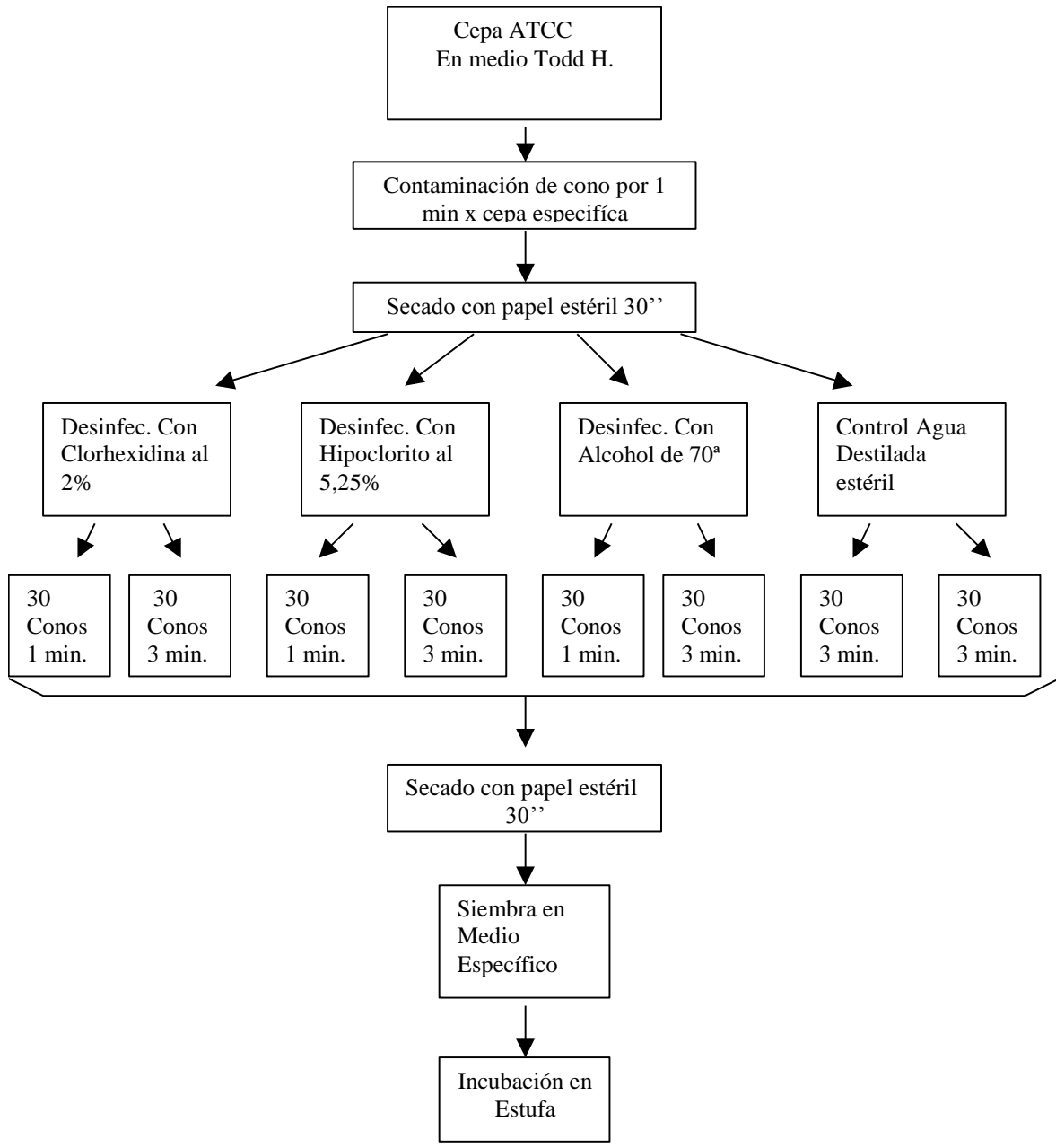


Fig.12 Procedimiento de contaminación y desinfección de los conos de gutapercha.

Prueba y análisis estadístico.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa para Windows Stata versión 8.1, mediante el cual realizó el test de proporciones para comparar los resultados.

VI. RESULTADOS

Los resultados se obtuvieron a través de la determinación de presencia o ausencia de crecimiento bacteriano, luego de haber llevado los conos de gutapercha descontaminados a estufa, según los tiempos antes descritos para cada cepa ATCC.

En la Tabla 1 se visualiza la ausencia de contaminación bacteriana en los conos de gutapercha desde su empaque original, sacados a partir de los dispensadores que los contienen.

Tabla 1. Conos de gutapercha sembrados en medio Todd Hewitt a partir de un empaque original sellado de fábrica.

Dispensadores	Numero de conos	
	Positivo	negativo
A	0	6
B	0	6
C	0	6
D	0	6
E	0	6
F	0	6

A continuación en la tabla 2, se muestran los resultados de crecimientos de los conos de gutapercha en el grupo control positivo y luego de haberlos sometidos a los desinfectantes, a distintos tiempos.

Tabla 2. Comparación de conos de gutapercha sometidos a descontaminación a diferentes soluciones desinfectantes al tiempo de 1 y 3 minutos para cada cepa ATCC

Soluciones Desinfectantes Conos contaminados	Gluconato de Clorhexidina al 2%		Hipoclorito de sodio al 5,25%		Alcohol 70		H2O destilada estéril	
	1 min.	3 min.	1 min.	3 min.	1 min.	3 min.	1 min.	3 min.
Candida albicans ATCC 10231	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	1 (n=30)	0 (n=30)	30	30
Actinomyces viscosus ATCC 19246	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	30	30
Staphylococcus aureus ATCC 25923	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	30	27
Enterococcus faecalis ATCC 29212	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	0 (n=30)	3 (n=30)	0 (n=30)	30	30

Se comparó el grupo control positivo y con cada solución en forma independiente, al tiempo correspondiente. Se determinó que al comparar el grupo control positivo y los desinfectantes gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% durante 1 minuto, estos resultan ser efectivos para todas las cepas estudiadas con diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. ($P < 0.01$). Sin embargo, frente a la descontaminación con alcohol de 70°, se detectó crecimiento positivo en un cono de gutapercha contaminadas con *Candida albicans*, no mostrando, a pesar de ello, diferencias estadísticamente significativas frente al grupo control. ($P > 0.01$). El mismo comportamiento fue establecido para el alcohol de 70° frente a conos de gutapercha contaminados con cepas de *Enterococcus faecalis* encontrándose crecimiento positivo en 3 conos de gutapercha, después de descontaminarlos por 1 minuto, pero tampoco existen diferencias significativas frente al control. ($P > 0.01$).

Al comparar el grupo control positivo con las distintas soluciones desinfectantes al tiempo de descontaminación de 3 minutos en forma independiente sobre las cepas ATCC *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Actinomyces viscosus* y *Enterococcus faecalis* se determinó que ellas son efectivas con diferencias estadísticamente significativas frente al control. ($P < 0.01$)

Por otra parte, al comparar las soluciones entre si, al descontaminar por 1 minuto los conos contaminados con las distintas cepas bacterianas, no hubo diferencias significativas entre gluconato de clorhexidina al 2%, hipoclorito de sodio al 5,25% y alcohol de 70°. ($P > 0,01$)

Al comparar los tiempos de inmersión de 1 y 3 minutos con cada cepa, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las soluciones. ($P > 0,01$)

VII. DISCUSIÓN

Numerosos estudios han analizado las propiedades antibacterianas de soluciones antisépticas y desinfectantes utilizadas en endodoncia y en la práctica general de la odontología, entre los que se destacan el hipoclorito de sodio, la clorhexidina y el alcohol. En sus distintas presentaciones y concentraciones se aprecian claramente el alto poder de desinfección que presentan, especialmente el hipoclorito de sodio al 5,25%, y la clorhexidina 2%. Su acción se revela incluso sobre el *Enterococcus faecalis*; que en diferentes estudios ha presentado cierta resistencia frente a estas soluciones utilizadas como irrigantes endodónticos. (50,43,46,28,32,31,36,47,42,51)

Actualmente se ha descrito que una manipulación inadecuada de los conos de gutapercha, mientras se realiza la obturación de los conductos, involucra una contaminación, aislándose de ellos cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Lactobacillus spp.*, y *Micrococcus spp.* (52)

Es indudable que es necesario cumplir con una técnica aséptica para llevar a cabo la obturación de los conductos radiculares impidiendo así una

contaminación y recontaminación de ellos y por lo tanto prevenir un fracaso del tratamiento endodóntico. ⁽⁷⁾

No existe consenso con respecto al tiempo necesario de inmersión en una solución de los conos de gutapercha previo a su utilización en el momento de sellar los conductos radiculares, ya que es indudable la potencial contaminación de éstos, bajo condiciones de almacenaje y manipulación inadecuada. ^(8,22,24,26,23,25)

Existe evidencia de que los conos tienen propiedades antibacterianas atribuido al Oxido de zinc que forma parte de su composición. ^(53,54) A pesar de ello, varios estudios señalan que es imprescindible la descontaminación de los conos de gutapercha en forma rápida y eficaz para no quebrar la cadena de asepsia que involucran a todo tratamiento endodóntico. ^(7,8,22,24,26,23,25)

La concentración del medio contaminante, con las cepas en estudio, fue de 1500×10^6 UFC/ml (Mc Farland 5) considerado muy denso, y que el tiempo de exposición fue de 1 minuto. Este aspecto es muy relevante pues no hay estudios que tomen tal densidad, ya que en ellos, la concentración de microorganismos correspondería a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml (Mc Farland 0,5).

Se pudo verificar que los conos de gutapercha en sus empaques originales no presentan contaminación alguna; este hecho corrobora las especificaciones de los fabricantes y de algunos autores.^(7,22,25,52,55)

En el presente estudio se comprobó y comparó la efectividad que poseen el hipoclorito de sodio a 5,25%, clorhexidina al 2% y alcohol 70°; mostrando la actividad antibacteriana frente a la contaminación artificial con cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces viscosus*, *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*, determinándose que no existen diferencias estadísticamente significativas que permitan discriminar cual es mejor para eliminar las bacterias.

Tampoco hubo diferencias significativas entre los tiempos de inmersión; considerando que el tiempo ocupado para cada acción clínica debe ser el mínimo que asegure el éxito del tratamiento, la inmersión de los conos en las soluciones por un minuto, según los resultados obtenidos en este trabajo, sería suficiente para la descontaminación efectiva.

Los resultados obtenidos para Hipoclorito de sodio a 5,25% mostraron similitud con el estudio realizado por Gomes y col. que descontaminaron conos de gutapercha en menos de 1 minuto. ⁽⁵²⁾

En tanto para la clorhexidina al 2% ha sido reportado que es tan efectiva como el hipoclorito al 5,25%, lo que también fue corroborado en este estudio, sin embargo, algunos trabajos describen tiempos de inmersión que sobrepasan los 10 minutos para algunas formas esporuladas. ^(21, 25). Gomes y col demostró que solo sería efectiva sobre 72 horas. ⁽⁵²⁾

Con relación al alcohol de 70° sobre conos de gutapercha contaminados, Stabholz y col. demostraron una efectividad absoluta sobre los 60 minutos, incluyendo *Bacillus subtilis* ⁽²¹⁾, sin embargo, ellos estudiaron la capacidad de esterilización, a diferencia de este trabajo que prueba desinfección. En el presente estudio se evidenció resistencia con las cepas *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*. En el primero, si bien existió sólo un crecimiento positivo después de la descontaminación por 1 minuto, al mirar a través de la lupa y luego por microscopía, se presentaron alteraciones de morfología de la cepa, lo que se debería a una incompleta acción de la solución. En tanto en el segundo caso ,para *Enterococcus faecalis*, al mismo

tiempo de descontaminación, no se evidenciaron alteraciones de estructura, lo que puede relacionarse a la resistencia y a las propiedades que él presenta ⁽¹³⁾. A pesar de la presencia de estas contaminaciones, estas no incidieron en los resultados al comparar el alcohol de 70° con los otros desinfectantes de este estudio, ya que no presentó diferencias estadísticamente significativas.

Por los resultados de la presente experiencia, tanto el Hipoclorito de sodio 5,25% como el gluconato de clorhexidina 2%, y el alcohol de 70° podrían ser desinfectantes de elección para utilizarlos sobre los conos de gutapercha de uso endodóntico.

Aún cuando el hipoclorito de sodio al 5,25 % actualmente es el que más tiempo ha estado en el mercado y su efectividad ha sido comprobada en innumerables estudios, recientemente se ha cuestionado los efectos que éste ocasionaría a la superficie del cono de gutapercha. Al respecto, Valois y col. utilizando microscopía electrónica, compararon las alteraciones de superficie y elasticidad que sufren los conos de gutapercha al sumergirlos en soluciones de hipoclorito de sodio a 0,5%; 2,5%; y 5,25%, encontrando que en estas dos últimas concentraciones existirían cambios estructurales y de elasticidad después de 5 minutos de inmersión. Al compararlos a un minuto de inmersión,

si bien no produjeron cambios estructurales, se evidenciaron cambios en la elasticidad comparado con el control, lo que dificultaría la obturación especialmente en conductos curvos.⁽⁵⁶⁾

En clínica, la descontaminación de los conos de gutapercha forma parte del protocolo para la obturación de los conductos, por ello, es imprescindible efectuarla en una solución y a un tiempo adecuado, para conseguir una descontaminación total, sin alterar las propiedades de los conos de gutapercha.

VIII. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que:

1. Existe ausencia de contaminación de los conos de gutapercha en empaques desde su fabricación.
2. El gluconato de clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio al 5,25% no mostraron evidencia estadísticamente significativa que demuestre ser mejor que el alcohol de 70° en la desinfección de los conos de gutapercha.
3. El tiempo mínimo de inmersión para una desinfección total de los conos de gutapercha contaminados con *Staphylococcus Aureus*, *Actinomyces*, *Enterococcus faecalis*, y *Candida albicans* en las soluciones de gluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% es de 1 minuto y para el alcohol de 70° es de 3 minutos.
4. Las soluciones de gluconato de clorhexidina al 2%, de hipoclorito de sodio al 5,25% y alcohol de 70° son eficientes en la desinfección de los conos de gutapercha previamente contaminados con cepas de *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces*, *Enterococcus faecalis*, y *Candida albicans* presentando diferencias estadísticamente significativa respecto al grupo control.

IX. SUGERENCIAS

- Es preciso realizar un estudio similar que contemple los pasos de manipulación de los conos de gutapercha, previo a la obturación de los conductos radiculares y por lo tanto que considere la aplicación de las soluciones desinfectantes utilizadas sobre conos de gutapercha que se encuentren guardados en sus dispensadores ya abiertos.
- Establecer el menor tiempo posible en que se logre la desinfección de los conos de gutapercha con los desinfectantes evaluados.
- Es necesario determinar la efectividad de los desinfectantes sobre cepas contaminantes que integren un biofilm ya que en este estudio fueron probados sobre cepas aisladas y puras (ATCC).
- Se deben realizar más estudios que logren evaluar las alteraciones que puedan producir las soluciones desinfectantes sobre los conos de gutapercha.

X. RESUMEN

Las puntas o conos de gutapercha son normalmente el material de obturación de elección en los tratamientos de endodoncia. Estas son ampliamente utilizadas por el odontólogo ya que presentan diversas ventajas. Se comercializan en cajas selladas y estériles, condición que se pierde al abrir el dispensador que las contiene cada vez que se realiza una obturación. Surge entonces la necesidad de desinfectar las puntas mediante su inmersión en una solución desinfectante que no altere la estructura del material y sus propiedades antes de introducirlos al conducto y asegurar que se encuentran libres de una carga bacteriana que lleve al fracaso del tratamiento.

El propósito de este estudio fue evaluar las soluciones desinfectantes de gluconato de clorhexidina al 2%, hipoclorito de sodio al 5,25% y alcohol de 70° a los tiempos de 1 y 3 minutos de inmersión, en la desinfección de los conos de gutapercha previamente contaminados con cepas ATCC de *Staphylococcus Aureus*, *Actinomyces*, *Enterococcus faecalis*, y *Candida albicans*.

El gluconato de clorhexidina al 2% y hipoclorito de sodio al 5,25% no mostraron evidencia estadísticamente significativa que demuestre ser mejor al alcohol de 70° en la descontaminación de los conos de gutapercha.

Se concluyó que las soluciones de gluconato de clorhexidina al 2%, de hipoclorito de sodio al 5,25% y alcohol de 70° son eficientes en la desinfección de los conos de gutapercha.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chugal N, Clive J, Spangberg L. Endodontic infection: some biologic and treatment factors associated with outcome. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 2003; 96 (1): 81–90.
2. Siqueira JF. Etiology of root canal treatment failure: why well treated teeth can fail. *Int Endod J* 2001; 34 (1): 1-10.
3. Lin L, Rosemberg P, Lin J. Do procedural errors cause endodontic treatment failure?. *JADA* 2005; 136: 187-193.
4. Molander A, Reit C, Dahlen G. Microbial status of root filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998; 31: 1-7.
5. Sundqvist G, Figdor D, Persson S. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome conservative re treatment. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 1998; 85: 86 –93.
6. Basmadjian C, Lebrun T. Factors influencing the long-term results of endodontic treatment: a review of literature. *Int dental J* 2002: 52 (2): 81- 86.
7. Canalda C, Brau E. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas, editorial Masson 2001, España; a) cap. 10: 101 - 108, b) cap. 11: 109-114; c) cap. 17: 194 – 218.

8. Montgomery S. Chemical decontamination of gutta-percha cones with polyvinylpyrrolidone – iodone. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 1973; 31:258 –266.
9. Adib V, Spratt D, Gulabivala K. Cultivable microbial flora associated with persistent periapical disease and coronal leakage after root canal treatment: preliminary study. *Int Endod J* 2004; 37 (8):542-551.
10. Siqueira Jr. J, Bilge H. Fungi in endodontic infections. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 2004; 97 (5): 632 – 641.
11. Xia T, Baumgartner JC. Occurrence of Actinomyces in infections of endodontic origin. *J Endod* 2003; 29 (9): 549 –552.
12. Siqueira J F, Rocas IN, Souto R. Actinomyces Species, Streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. *J Endod* 2002; 28 (3): 168-172.
13. Stuart CH, Schwartz S, Beeson T. Enterococcus faecalis: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment, *J Endod* 2006; 32 (2): 93 –98.
14. Svensäter G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections, *Endodontic Topics* 2004; 9: 27–36.
15. Siqueira J F, Rocas IN. Fungal Infection of the Radicular Dentin. *J Endod* 2002; 28 (11):770-773.

16. Velázquez-Meza M.A. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* metilicilino resistente. *Rev. Salud Pública de México* 2005; 47 (5): 381 – 387.
17. Jawetz E, Melnick J, Adenberg E. *Medical Microbiology*, Nineteenth edition. Appleton & Lange 1991, USA. a) cap. 14 b) cap. 15 c) cap. 16.
18. Picasso G. Identificación niveles salivales y prevalencia de levaduras del género *Candida* en grupos de pacientes chilenos con y sin candidiasis. Trabajo investigación para optar Título de Cirujano Dentista 2006. Fac. Odontología U. De Chile.
19. Grimaudo NJ, Nesbitt WE, Clark WB. Coaggregation of *Candida Albicans* whit oral *Actinomyces* species. *Oral Microbiol immunol* 1996; 11: 59-61.
20. De Souza R, De Souza E. *In vitro* evaluation of different chemical agents for the decontamination of gutta-percha cones. *Pesqui. Odontol Bras* 2003; 17 (1):75-77.
21. Stabholz A, Stabholz A, Friedman S. Efficiency of different chemical agents in decontamination of gutta-percha cones. *Int Endod J* 1987; 20: 211-216.
22. Da Motta PG, De Figueiredo C, Maltos S, et al. Efficacy of chemical sterilization and storage conditions of gutta-percha cones. *Int Endod J* 2001; 34: 435-439.

23. Ensinas, P.; Zacca R. Evaluación del grado de desinfección de los conos de gutapercha sometidos a diferentes líquidos antisépticos. Trabajo de Investigación presentado en el V Encuentro de investigación en Endodoncia, Sociedad Argentina de endodoncia. Salta, Argentina 2005
24. Frank RJ, Pelleu GB. Glutaraldehyde decontamination of guttapercha cones. *J Endod* 1983; 9: 368-370.
25. Siqueira Jr. JF, Pereira da Silva CHF, Cerqueira MDO, et al. Effectiveness of four chemical solutions in eliminating *Bacillus subtilis* spores on gutta-percha cones. *Endod Dent Traumatol* 1998; 14: 124-126.
26. Cardoso C, Kotaka C, Redmerski R, et al. Rapid Decontamination of Guttapercha Cones with Sodium Hypochlorite. *J Endod* 1999; 25: 498 - 501.
27. Sánchez-Saldaña L, Sáenz E. Antisépticos y Desinfectantes. *Dermatología Peruana* 2005; 15 (2): 82 –103.
28. Fardal O, Turndbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *JADA* 1986; 112: 863-869.
29. Morante S. Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de clorhexidina sin alcohol frente a la prevención de gingivitis y la neoformación de placa supragingival” Trabajo de investigación para optar al Grado de Doctor 2003; Fac. Odontología, Universidad Complutense de Madrid.

30. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard?. *Periodontol 2000* 1997; 15: 55-62.
31. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod. Dent. Traumatol* 1993; 9:243 – 248.
32. Gusberti FA, Sampathkumar P, Siegrist BE, et al. Microbiological and clinical effects of chlorhexidine digluconate and hydrogen peroxide mouthrinses on developing plaque and gingivitis. *J. Clin period* 1998; 15: 60 – 67.
33. Bascones A, Manso F. Clorhexidina en odontoestomatología: conceptos actuales y revisión de la literatura. *Av Odontoestomatol*; 1994; 10: 685-708.
34. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales.Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Av Periodon Implantol* 2006; 18: 31-59.
35. Siqueira JF, De Uzeda M. intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod* 1997; 23: 167-169.
36. D arcangelo C, Varvara G, De Fazio P. An evaluation different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate microaerophilic bacteria. *J Endod*, 1999; 25:351-353.
37. Southard SR, Drisko CL, Killoy WJ, et al. The effect of 2.0% chlorhexidine digluconate irrigation on clinical parameters and the level of *Bacteroides gingivalis* in periodontal pockets. *J Periodontol* 1989; 60:301-309.

38. Leonardo M, Tanomaru F, Silva L. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod* 1999; 25: 167-171.
39. Piskin B, Turkün M. Stability of various sodium Hypochlorite solutions. *J Endod* 1995; 21:253 – 255.
40. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, et al. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz dent J* 2002; 13 (2):113- 117.
41. Guerisoli DM, Silva RS, Pécora JD. Evaluation of some physico-chemical properties of different concentrations of sodium hypochlorite solutions. *Braz. Endod. J* 1998; 3(2): 21-23.
42. Siqueira JF, Rocas IN, Favieri A, et al. Chemo mechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 15, 2,5% 5,25% sodium hypochlorite. *J. Endod* 2000; 26: 331-334.
43. Yesiloy C, Whitaker E, Cleveland D. Antimicrobial and toxic effects established and potential Root canal Irrigants. *J. Endod* 1995; 21:513-515.
44. Ingle J, Backland L. Endodoncia. Editorial McGraw-Hill Interamericana 4ta edición 1996; Cap 2 :187-192, Cap. 4:238-247, Cap 12: 662 -665.
45. Cunningham WT, Balekgian AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 1980; 4 :175 - 177.

46. Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshe R. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium Hypochlorite on endodontic microorganism *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2004; 37: 438-446.
47. Gomes B, Ferraz C, Vianna M, et al. In Vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2001; 34: 424 –428.
48. Argüello C, Demetrio AM, Chacón M. Uso Racional de Productos Antisépticos. Guía Practica Clínica Resolución exenta N° 150 del 19 de Noviembre 2002. Hosp Santiago Oriente “Dr. Luis Tisné Brousse”.
49. Instituto de Salud Pública de Chile.(2006) Ministerio de Salud de Chile <http://www.ispch.cl/>.
50. Gomes B, Vianna M, Bellocchio V, et al. In Vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 2004; 97 (1):79 –84.
51. Dunavant T, Regan J, Glickman G, et al. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod* 2006; 32 (6): 527-531.

52. Senia ES, Macarro RV, Mitchell JL, Lewis AG, Thomas L. Rapid sterilization of gutta-percha cones with 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod* 1975 1:136-140.
53. Marciano J, Michalesco P. Dental Gutta-percha: Chemical Composition, X-Ray Identification, Enthalpic Studies, and Clinical Implications. *J Endod* 1989 15(4):149-153.
54. Moorer WR. Antibacterial activity of gutta-percha cones, attributed to the zinc oxide components. *J Endod* 1982; 53: 508-517.
55. Gomez BP, Vianna M, Ujissato C. Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 2005; 100:512-517.
56. Valois C, Silva L, Azevedo R. Structural effects of sodium hypochlorite solutions on gutta-percha cones: atomic force microscopy study. *J Endod* 2005; 31: 749 – 751.

XII. ANEXO 1



SOLICITUD DE VENTA DE CEPAS BACTERIANAS

**Departamento Laboratorios de Salud
Sección Bacteriología General**

NOMBRE DEL LABORATORIO.....
DIRECCIÓN.....
CIUDAD.....
RUT.....
TELÉFONO.....
FAX.....

Cepas solicitadas:

.....
.....
.....
.....

**En que técnica serán
utilizadas:**.....
.....

Nombre del profesional responsable del Laboratorio:
.....

Firma..... **RUT**.....

Fecha solicitud.....

Uso exclusivo ISP	
V°B° Jefe SubDepartamento Microbiología Clínica Laboratorios de Salud	Fecha:

SECCION BACTERIOLOGIA GENERAL FONO 3507428 FAX 3507582