

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**

**Evaluación in vitro del grado de susceptibilidad de *Candida albicans* a cuatro soluciones irrigantes usadas en endodoncia: Hipoclorito de sodio al 2.5%, Hipoclorito de sodio al 5.25%, Gluconato de Clorhexidina 2.0%, EDTA al 17% (Ácido etilindiaminotetraacético)**

**Dra. Raquel Esmeralda Guillén Guillén.**

Tesis de postgrado presentada como requisito para la  
obtención del título de especialista en Endodoncia

Quito

Diciembre de 2008

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**  
**COLEGIO DE POSTGRADOS**

**Evaluación in vitro del grado de susceptibilidad de *Candida albicans*  
a cuatro soluciones irrigantes usadas en endodoncia: Hipoclorito de  
sodio al 2.5%, Hipoclorito de sodio al 5.25%, Gluconato de  
Clorhexidina al 2.0%, EDTA al 17% (Ácido  
etilindiaminotetraacético)**

**Dra. Raquel Esmeralda Guillén Guillén.**

Tesis de postgrado presentada como requisito para la  
obtención del título de especialista en Endodoncia

Quito  
Diciembre de 2008

**Universidad San Francisco de Quito**

**Colegio de Postgrado**

**HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS**

Evaluación in vitro del grado de susceptibilidad de *Candida albicans* a cuatro soluciones irrigantes usadas en endodoncia: Hipoclorito de sodio al 2.5%, Hipoclorito de sodio al 5.25%, Gluconato de Clorhexidina 2.0%, EDTA17% (Ácido etilindiaminotetraacético)

**Dra. Raquel Esmeralda Guillén G.**

Nicolás Castrillón. Dr.  
Director de la Tesis

---

Sonia Zapata Dra.  
Codirectora de tesis

---

Silvana Terán. Dra.  
Miembro del Comité de Tesis

---

Ana Corina Cisneros Dra.  
Miembro del Comité de Tesis

---

Andrea Ponce Dra.  
Miembro del Comité de Tesis

---

Enrique Noboa Dr.  
Decano del Colegio de Ciencias de la Salud

---

Mauricio Tinajero Dr.  
Director del Postgrado de Odontología

---

Víctor Viteri Breedy, Ph.D.  
Decano del Colegio de Postgrados

---

Quito, diciembre de 2008

## **DEDICATORIA**

A mis queridos sobrinos, ya que son el futuro de mi familia, a mi hermano Paco, que está en el cielo, y dese ahí sentí su apoyo siempre, a toda mi familia y amigos por su comprensión y apoyo incondicional en todo momento.

Dedico este trabajo, a todas aquellas personas que me han acompañado en mi camino de formación, aquellas cuyo ejemplo, experiencia he aprovechado, aquellas que, su rectitud me formaron, sus valores me inculcaron, su fuerza me brindaron, y cuyo apoyo ha constituido un verdadero pilar en mi vida.

Ñño Paco, siempre vivirás en mi corazón.

## **AGRADECIMIENTO**

Al creador del mundo, DIOS, por ser la luz de mi vida, y brindarme fuerzas día tras día, América, Félix, mis Padres, por darme la vida, su apoyo inmesurado, y porque ellos son mi razón de ser. A mis hermanos, por sus consejos tan acertados, Maribel, Andrés y Pili por sus palabras de aliento.

Agradezco de manera especial al Dr. Nicolás Castrillón, por su dedicación y frenesí en la dirección de la tesis, a la Dra. María Gracia Dávalos, por hacer posible la importación de la levadura, de igual forma agradezco al Dr. Gabriel Trueba, Dra. Sonia Zapata, Biotecnólogos Dimitri Kakabatsi y Andrés Travez, por ofrecerme su tiempo en la dirección experimental de esta investigación.

A la Universidad San Francisco de Quito, concretamente a la coordinación del Postgrado de Endodoncia y su cuerpo docente: Dr. Juan Carlos Izquierdo Camacho, Dra. Maria Fernanda Mora, Dra. Ana Corina Cisneros, Dra. Andrea Ponce, Dra. Johana Monar, Dra. Silvana Terán, Dra. Carla Seminario. Quienes me ofrecieron dadivosamente sus conocimientos y experiencias.

## RESUMEN

Como parte de la composición de la flora bacteriana involucrada en fracasos de los tratamientos endodóncicos se encuentra la levadura *Candida albicans*. Para establecer el grado de susceptibilidad que presenta la levadura *Candida albicans*, a diferentes soluciones irrigantes usadas en endodoncia como: Hipoclorito de sodio al 2.5%, hipoclorito de sodio al 5.25%, clorhexidina al 2.0%, EDTA al 17%, se sumergieron discos de papel filtro en cada solución y embebidos se suspendieron en medios de cultivo de Mueller Hinton acondicionados con *Candida albicans* ATCC 10231. De esta forma, se incubaron a 37°C de 24 hh a 48 hh. Los resultados en halos de inhibición bacteriana mostraron al EDTA al 17%, ser el más efectivo, seguido de la Clorhexidina al 2%. Adicional a esto, se investigó el tiempo requerido para reducción o eliminación de colonias de esta levadura, por tanto, se efectuó el conteo del número de células micóticas que hay en una colonia, en cámara de Petroff Hausser, inmediatamente, se sumergió una colonia de *Candida* en 5ml de cada solución para tomar 100 uL, a los uno, dos y tres minutos y sembrar en medios de cultivo con Mueller Hinton. Se examinó el número de colonias en la cámara contadora, encontrando reducción a cero de colonias en menos de un minuto para el EDTA 17% y Clorhexidina 2%, mientras que las soluciones de hipoclorito de sodio no redujeron completamente las colonias de *Candida albicans* en el mismo tiempo. Se concluye que, entre los irrigantes usados en endodoncia, el EDTA 17%, como primera opción y clorhexidina en segunda opción son eficaces para tratar *Candida albicans*.

## SUMMARY

As part of the composition of bacterial flora involved in the failure of the Endodontic treatment, it is found *Candida albicans* yeast. In order to establish the degree of susceptibility that represents *Candida albicans* yeast to different irrigant solutions used in Endodontics as: Sodium Hypochlorite 2.5%, Sodium Hypochlorite 5.25%, Clorhexidine 2.0%, EDTA 17% were used; disks of felt were immersed in each solution and then soaked were suspended in cultures of Mueller Hinton aconditioned with *Candida albicans* ATCC 10231. In this form, they were incubated in 37°C from 24h to 48h. Results in zones of bacterial inhibition showed that EDTA 17%, was the most effective, followed by clorhexidine 2%. Also, it was investigated the time required for reduction or elimination of colonies of this yeast, and so, it followed counting of the number of fungus cells that are involved in a colony, in a Petroff Hausser chamber; immediately a *Candida* colony was immersed in 5 ml of each solution to take 100 uL, in one, two and three minutes and sow in bacterial cultures with Mueller Hinton. It was examined the number of colonies in the counting chamber, founding reduction to zero of colonies in less than one minute for EDTA17% and Clorhexidine 2%. It is concluded that among irrigants used in Endodontics, EDTA 17%, is the first option and Clorhexidine as second one are both efficient to treat *Candida albicans*.

## INDICE

	Pág
<b>DEDICATORIA</b>	I
<b>AGRADECIMIENTO</b>	II
<b>RESUMEN</b>	III
<b>ÍNDICE</b>	V
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	3
<b>3. OBJETIVOS</b>	4
3.1. Objetivos generales	4
3.2. Objetivos específicos	4
<b>4. HIPÓTESIS</b>	5
<b>5. REVISIÓN DE LA LITERATURA</b>	6
5.1. Levaduras	6
5.1.1. Levadura <i>Candida albicans</i>	6
5.1.2. Historia	6
5.1.3. Composición de la pared celular	7
5.1.4. Morfología de <i>Candida Albicans</i>	7
5.1.5. Reproducción	7
5.1.6. Taxonomía	7
5.1.7. Tipos de <i>Cándidas albicans</i>	8
5.1.8. Factores de virulencia	8
5.1.9. Metabolitos	8
5.1.10. Fases de infección de <i>Candida albicans</i>	9
5.1.11. Factores locales que favorecen la existencia de <i>Candida albicans</i>	9
5.2. <i>Candida albicans</i> en endodoncia	10

5.2.1. Fracaso de la terapia Endodóncica	11
5.2.2. Persistencia de <i>Candida albicans</i>	13
5.2.3. Resistencia de <i>Candida albicans</i> a los medicamentos	15
5.2.4. Tratamiento en Endodoncia	16
5.3. Irrigantes en endodoncia	17
5.3.1. Irrigación en Endodoncia	17
5.3.1.1. Reseña histórica	18
5.3.1.2. Objetivos de irrigación en Endodoncia	18
5.3.1.3. Características de un irrigante ideal	19
5.3.2. Soluciones actuales para irrigación del conducto radicular	19
5.3.2.1. Solución salina	19
5.3.2.2. Clorhexidina	20
5.3.2.3. Hipoclorito de sodio	24
5.3.2.4. Quelantes	30
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>36</b>
6.1. Diseño de estudio	36
6.2. Metodología	36
6.2.1. Fase 1: Evaluación de susceptibilidad de <i>Candida albicans</i> a soluciones irrigantes mediante halos de inhibición bacteriana	36
6.2.1.1. Materiales empleados	36
6.2.1.2. Medios y soluciones usadas	37
6.2.1.3. Muestra	37
6.2.1.3.1. Microorganismos	37
6.2.1.3.2. Grupo de soluciones en estudio	38
6.2.1.3.3. Grupo control negativo	38
6.2.1.3.4. Grupo control positivo	38
6.2.1.4. Procedimiento de siembra	39

6.2.1.5. Preparación de los irrigantes	41
6.2.1.6. Preparación de los discos de papel filtro	42
6.2.1.7. Test de halo de inhibición de levaduras	42
6.2.2. Fase 2: Evaluación de susceptibilidad de <i>Candida albicans</i> a soluciones irrigantes en tiempo. (Uno, tres y cinco minutos)	45
6.2.2.1. Preparación de la levadura previo a su conteo	46
6.2.2.2. Conteo de la levadura con la Cámara Petroff Hausser	47
6.2.2.3. Preparación de los irrigantes	48
6.2.2.4. Test de eficacia antimicótica en uno, dos y tres minutos	49
<b>7. RESULTADOS</b>	<b>51</b>
7. 1. Recolección de Datos	51
7. 1. 1. Fase 1: Evaluación de susceptibilidad de <i>Candida albicans</i> a soluciones irrigantes mediante halos de inhibición bacteriana	51
7. 1. 2. Fase 2: Evaluación de susceptibilidad de <i>Candida albicans</i> a soluciones irrigantes en tiempo. (Uno, tres y cinco minutos)	51
7.2. Análisis estadísticos	53
7.2.1. Fase 1: Fase 1: Evaluación de susceptibilidad de <i>Candida albicans</i> a soluciones irrigantes mediante halos de inhibición bacteriana	53
7.2.1.1 Estadísticos descriptivos	53
7.2.2. Fase 2: Evaluación de susceptibilidad de <i>Candida albicans</i> a soluciones irrigantes en tiempo. (Uno, tres y cinco minutos)	57
7.2.2.1 Estadísticos Descriptivos	57
<b>8. DISCUSIÓN</b>	<b>67</b>
<b>9. CONCLUSIONES</b>	<b>71</b>
<b>11. RECOMENDACIONES</b>	<b>72</b>
<b>12. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>73</b>

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>Pag.</b>
Figura N° 1. <i>Candida Albicans</i> y <i>Enterococcus faecalis</i> invadiendo los túbulos dentinarios. Tomado de Siqueira Jr. 2004.	11
Figura N° 2. Foramen lingual mostrando reproducción de levaduras adheridas a la gutapercha extruída del foramen lingual. Tomado de Ferreira, 2004.	14
Figura N° 3. Microfotografía al Microscopio Electrónico de Barrido mostrando levaduras en las fibras periapicales. Tomado de Waltimo, 1999	14
Figura N° 4. Cepas <i>Candida albicans</i> ATCC	36
Figura N° 5. Soluciones de grupo de estudio	38
Figura N° 6. Soluciones de Grupo control positivo y negativo	39
Figura N° 7a. Preparación del medio Sabouraud	40
Figura N° 7b. Sabouraud en cajas Petri	40
Figura N° 8. <i>Candida albicans</i> ATCC, en medio Sabouraud	40
Figura N° 9. Tubos de Eppendorf con las soluciones irrigantes	41
Figura N° 10. Colocación de la solución irrigante en Caja Petri	41
Figura N° 11. Preparando discos de papel filtro	42
Figura N° 12a. Preparación de Medio <b>Mueller Hinton agar</b>	

Figura N° 12b. Medio **Mueller Hinton agar depositando en las cajas Petri** 43

Figura N° 13. Rotulando el medio de cultivo 43

Figura N° 14a. Hisopo en suspensión de *Candida albicans* 44

Figura N° 14b Sembrando *Candida albicans*. 44

Figura N° 15. Tomando un disco de papel filtro 44

Figura N° 16a. Embebiendo los discos de papel filtro en solución irrigante 45

Figura N° 16b. Test listo en caja Petri 45

Figura N° 17. Cajas Petri con muestra en incubación 45

Figura N° 18. Suspensión de *Candida Albicans* ajustando a escala  
Mc Farland 5 47

Figura N° 19. Observación microscópica de levaduras en Cámara Petroff Hausser 47

Figura N° 20. Soluciones irrigantes en tubos de ensayo. 49

Figura N° 21. Un hisopo tomando una colonia de *Candida albicans* 49

Figura N° 22. Sumergiendo una colonia en el irrigante 50

Figura N° 23a. Tomando con la micropipeta 5ml de la solución con la levadura 50

Figura N° 23b. Estriando la solución depositada en al caja Petri. 50

<b>LISTA DE TABLAS</b>	<b>Pag.</b>
Tabla N° 1. Aislamiento de microorganismos en canales tratados. (Sundqvist 1998.)	12
Tabla N° 2. Acción del hipoclorito a diferente temperatura y concentración	28
Tabla N° 3. Grupos de estudio y ensayos de Fase 1	39
Tabla N° 4. Grupos de estudio y ensayos de fase 2	46
Tabla N° 5. Tabla de conteo de levaduras: (Yp) Valor promedio; (Yt) Valor total, para cada solución.	48
Tabla N° 6. Mediciones de los halos de inhibición formados por cada solución irrigante empleada en el estudio.	51
Tabla N° 7. Número de colonias resultantes, en los diferentes tiempos de experimentación (1, 3 ,5 minutos) y en los distintos ensayos.	52
Tabla N° 8: Estadísticos Descriptivos de fase 1	53
Tabla N° 9. Tabla ANOVA de fase 1	54
Tabla N° 10: Múltiples comparaciones entre la soluciones irrigantes empleadas mediante la prueba de Scheffé, de fase 1	55
Tabla N° 11: Prueba de Duncan fase 1	56

Tabla N° 12. Estadísticos Descriptivos fase 2	58
Tabla N° 13. ANOVA de fase 2	59
Tabla N° 14. Pruebas de Sheffé en uno tres y cinco minutos	60
Tabla N° 15: Pruebas de Duncan en uno tres y cinco minutos	63

## **LISTA DE GRÁFICOS**

**Pag.**

Gráfico N° 1. Gráfico de las Medias de las Soluciones Irrigantes	57
Gráfico N°2a. Medias de las soluciones en un minuto	65
Gráfico N°2b. Medias de las soluciones en tres minutos	66
Gráfico N°2c. Medias de las soluciones en cinco minutos	66

## 1.- INTRODUCCIÓN

Las infecciones endodóncicas se caracterizan por la presencia de diferentes tipos de bacterias, según Sundqvist (1976), alrededor de 150 especies han sido aisladas de los conductos necróticos y algunas de ellas estarían directamente relacionadas con las lesiones persistentes, entre estas se encuentra *Candida albicans*, que desde el nacimiento o poco después del mismo se encuentra normalmente distribuida en pequeñas cantidades, en regiones diferentes de nuestro cuerpo como: la vagina, tracto digestivo, piel y mucosa bucal, donde no ocasiona ningún tipo de síntoma o enfermedad, ya que viven en un constante sinergismo con nuestro organismo. No obstante, siempre persiste el riesgo de presentarse una infección endógena con *Candida*, sobre todo cuando las barreras físicas y el sistema inmune del hospedador se encuentran disminuidos o suprimidos, lo cual favorece el ingreso de esta levadura, desde la cavidad oral hacia los conductos radiculares, razón por lo que, ha perdurado una preocupación creciente sobre las infecciones causadas por esta levadura a nivel radicular. Las investigaciones microbiológicas han mostrado que las levaduras pueden estar presentes en la microflora de periodontitis apicales ya que podrían ingresar en la pulpa a través de los túbulos dentinarios, lesiones cariosas profundas, fracturas dentales, o como contaminantes de la microflora oral durante el tratamiento radicular. Factores naturales, como los cambios ecológicos en un canal infectado permiten a las levaduras sobrevivir aunque suprimiendo a otros microorganismos, lo que favorece a la instalación de la infección endodóncica, de las cuales algunas persisten, incluso después del tratamiento endodóncico convencional. (1,2)

Casi todas las levaduras aisladas de las infecciones persistentes endodóncicas pertenecen al género *Cándida* y la especie más común es *albicans*. La importancia clínica de la *Candida albicans*, radica en la alta resistencia que presenta ante el hidróxido de calcio como medicamento intracanal, Waltimo y cols. (1999). Por tanto, la resistencia al hidróxido de calcio y la habilidad de penetrar en los canales

laterales y túbulos dentinarios son las posibles razones para la ocurrencia de *Cándida albicans* en la microflora de periodontitis apical persistente. (2, 3,4)

El tratamiento antifúngico sistémico como los antibióticos, o local como las soluciones irrigantes, son usados en diferentes formas y concentraciones en contra de la levadura albicans presente en conductos radiculares. Varios estudios se han llevado a cabo en el tratamiento de estomatitis por dentadura postiza; infecciones mixtas (Bacteria anaerobia y aerobia) en el conducto radicular y otras formas comunes de candidiasis oral, pero la literatura sobre la susceptibilidad de Cándida a los desinfectantes endodóncicos está limitada. Es por ello, la importancia en realizar más estudios de susceptibilidad de Cándida que corroboren la eficacia terapéutica antimicótica en endodoncia. (2, 3,4)

De esta manera, el propósito de este estudio es determinar la susceptibilidad in vitro de *Candida albicans* a cuatro irrigantes comúnmente usados en endodoncia como lo son: Hipoclorito de sodio al 2.5%, Hipoclorito de sodio al 5.25%, Gluconato de Clorhexidina al 2.0% y EDTA al 17% (Ácido etilindiaminotetraacético), debido que hasta hoy es poca la investigación sobre este hongo en conductos radiculares. Se hace este estudio, con el fin de determinar que desinfectante es el mejor antimicótico, para así buscar nuevas alternativas de tratamiento, capaces de eliminar este tipo de levadura y de esta manera, tratar adecuadamente el tejido necrótico presente en las infecciones endodóncicas persistentes. (1.4)

## 2. JUSTIFICACIÓN:

En la mayoría de los casos, la persistencia de lesiones apicales es atribuida a la permanencia de microorganismos en el sistema de conductos radiculares, entre las que se destaca *Candida albicans*, entre otros. Esto se debe a una preparación y desinfección inadecuada durante el tratamiento endodóncico, que no cumplen con los estándares satisfactorios para el control y eliminación de esta microbiota y en otros casos también se da por un sellado coronal ineficiente, lo que conlleva a la recontaminación del sistema de conductos radiculares. La microbiota relacionada de dientes tratados endodóncicamente con periodontitis apical crónica persistente no ha sido tan ampliamente estudiada como la involucrada en pulpas necróticas, sin embargo se ha logrado establecer que existen diferencias significativas en su composición, y de esta manera se ha instituido que esta flora exhibe particularidades superiores de virulencia y resistencia al tratamiento endodóncico convencional. Generalmente los microorganismos que conforman esta flora, son bacterias anaerobias facultativas gram (+), con capacidad patógena de provocar monoinfección. (5,13). No obstante el componente microbiológico más importante en las lesiones persistentes después del tratamiento endodóncico tiene en primer lugar al *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces israelii*, *Bacteroides grácilis*, *Peptostreptococcus micros* seguido de la levadura *Candida albicans*, por tanto, la mayoría de estudios de susceptibilidad se han encaminado al *Enterococcus faecalis*. Por todo lo anteriormente expuesto, es necesario realizar estudios de susceptibilidad a esta levadura y de esta manera estar al tanto de las formas químicas de aplicación clínica para poder atenuarla y eliminarla. (1, 2, 3,4)

### **3. OBJETIVOS**

#### **3. 1.- OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar, in vitro la susceptibilidad de la cepa *Candida albicans* frente a soluciones irrigantes comunes usadas en endodoncia como: Hipoclorito de sodio al 2.5%, Hipoclorito de sodio al 5.25%, Gluconato de Clorhexidina al 2.0%, EDTA al 17% (Ácido etilindiaminotetraacético).

#### **3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Determinar de entre las soluciones irrigantes estudiadas aquella que presente el mayor halo de inhibición
- Determinar de entre las soluciones irrigantes estudiadas aquella que presente el menor halo de inhibición
- Evaluar de entre los desinfectantes estudiados cual produce mayor efectividad antimicótica en cuanto al tiempo requerido para eliminación o reducción de colonias Candida.

#### **4. HIPÓTESIS**

Según investigaciones previas de susceptibilidad de *Candida albicans* a diferentes soluciones irrigantes en endodoncia, se ha determinado que, el hipoclorito de sodio a concentraciones de: (2.5%, 5.25%) y principalmente la clorhexidina al 2% eliminan a *Candida albicans*. Por lo que, seguramente, el presente estudio demostrará que la Clorhexidina al 2% es el más efectivo en contra de esta levadura

## **5. REVISIÓN DE LA LITERATURA**

### **5.1. Levaduras**

Son hongos unicelulares y la mayoría son ascomicetos, grupo al cual pertenece la levadura *Candida albicans*. Aunque los hongos constituyen un grupo grande y diverso, prácticamente hay tres grupos importantes:

- Hongos filamentosos
- Levaduras
- Setas (14, 15, 16, 17)

#### **5.1.1. Levadura *Candida albicans***

Son organismos oportunistas, que se instalan como infecciones secundarias a otras primarias causadas por bacterias. Es un microorganismo unicelular eucariótico distribuido durante el nacimiento o poco después del mismo, en pequeñas cantidades en regiones diferentes de nuestro cuerpo como en la vagina, en la mucosa bucal, en el tracto digestivo y en la piel y no ocasiona ningún tipo de síntoma de enfermedad ya que viven en un constante equilibrio con nuestro organismo y constituyen parte de la flora bucal normal, existiendo, por lo tanto, riesgo de infección endógena constante. (14, 15,17)

#### **5.1.2. Historia**

Langenbeck (1.839), fue el primero en descubrir el microorganismo observándolas en forma de placas en las membranas mucosas de la boca, más tarde Robin y Monilia Albicans (1842), confirman esta observación denominándola *Oidium albicans*, aislándolo en las rodajas de papas que eran frotadas en la cabeza de un niño. En 1923 Burkhout la denominó *Candida albicans*; terminología utilizada actualmente y Sundqvist (1976), tipificó esta levadura en las infecciones endodóncicas persistentes. (18, 19,21)

### **5.1.3. Composición de la pared celular**

Contienen una pared celular rígida, compuesta por celulosa, polisacáridos, poseen además en su pared un 80-90% de carbohidratos, dentro de las cuales se encuentran las proteínas, lípidos, polifosfatos e iones inorgánicos. Madigan y cols. (1999). (14,15)

### **5.1.4. Morfología de *Candida Albicans***

Normalmente son células ovales o cilíndricas que presentan pseudomicelio por alargamiento de células que no llegan a desprenderse, y micelio cuando llegan a desprenderse, poseen estructuras tubulares denominada hifas las cuales crecen en ramificación.

*Candida albicans*, es una levadura potencialmente patógena que causa infecciones, necesita estar en su forma filamentosa o pseudomicelial para ser verdaderamente patógena. Madigan y cols. 1999. (7,17)

### **5.1.5. Reproducción**

La reproducción se realiza por gemación de 2.5um x 4 y 6um, se origina una pequeña yema que aumenta de tamaño gradualmente y se separa de la célula madre. (7, 16,17)

### **5.1.6. Taxonomía**

*C. albicans*, es una levadura que pertenece al Reino de los hongos imperfectos, grampositiva alargada semejante a hifas.

- Clase: Blastomices
- Orden Criptococales
- Familia Criptococacea

Fermenta glucosa y maltosa produciendo ácido y gas, en especial de la sacarosa y no ataca a la lactosa, es una de las características morfológicas que distinguen a *Candida albicans* de las otras especies de *Candida*. (7, 13,14)

### **5.1.7. Tipos de Cándidas**

Se ha demostrado mediante investigaciones que existen aproximadamente doscientas especies de *Cándidas* (*tropicales, dubliniensis, glabrata, guilliermondii, lusitaniae, parapsilosis, neoformans, kefir, krusei*) de las cuales solo la especie *albicans* ha sido el fúngico más común en los tejidos orales. (16,17)

### **5.1.8. Factores de virulencia**

La virulencia de *Candida albicans* está determinada, por la producción de clamidoesporas típicas de este género, que las diferencian del resto, ya que incrementa su patogenicidad. Además se ha demostrado que también va a depender de otros factores como:

- Producción de hifas, las mismas que permiten la adherencia al tejido mineral. Hifas que, a medida que crecen, dan lugar al tubo germinal, que es un apéndice largo con crecimiento hacia afuera
- Pseudomicelios o micelios.(7,14)

### **5.1.9. Metabolitos**

Capaces de inhibir la respuesta defensiva por parte del huésped como la fagocitosis y la activación de anticuerpos, entre los cuales se encuentran:

- Toxinas asesinas
- Anafilatoxinas
- Nitrosaminas.
- Putresina (mal olor moho)
- Hidrolasas extracelulares (proteasas y lipasas),
- Fosfolipasas. (7, 13, 14, 15, 7,16,)

Estos factores están controlados por diferentes genes que se expresan en un número determinado y en un momento concreto para acordar el fenotipo y la virulencia, dentro de los cuales dos son los principales:

- Gen de la hexosamida (HEDA), genes de proteinasa aspárticas (SAP 1, SAP2, SAP3, SAP4).
- Gen para producir tubos germinales y favorecer la adhesión (INT1). (7, 16,17)

#### **5.1.10. Fases de infección de *Candida albicans***

Para desarrollar el proceso de infección, el género *Candida albicans* presenta varios estadios como lo son:

##### **5.1.10.1. Invasión y colonización**

*Candida albicans* es capaz de ingresar por medio de sus hifas a los túbulos dentinarios y sobrevivir a baja tensión de oxígeno molecular, gracias a:

- Fuentes nutritivas: Pulpa necrótica.
- Las interacciones microbianas
- Exudado inflamatorio que contiene elementos séricos y hemáticos que son producto de alteraciones inflamatorias pulpares y periapicales.

Si se presenta una comunicación entre el espacio pulpar y el medio bucal, la saliva aportará elementos que fomentarán su crecimiento bacteriano. (5, 8,6)

##### **5.1.10.2. Penetración y producción de Enzimas hidrolíticas**

La producción de tubos germinales de *Candida (albicans y dubliniensis)* que luego se transforman en largas hifas, facilita y permite la penetración por los espacios intracelulares. (5, 8,6)

#### **5.1.11. Factores locales que favorecen la existencia de *Candida albicans***

Para favorecer a la presencia de *Candida*, coexisten múltiples factores para el desarrollo de *Candidas*.

#### **5.1.11.1. Factores fisiológicos y patológicos del huésped**

Los agentes dietéticos ricos en carbohidratos, y deficiencias nutricionales benefician, al descenso del número de fagocitos, presencia de defectos intrínsecos en las células inmunológicas y desperfectos en el sistema inmune celular con alteraciones en las células T. Se incluye además, en esta clasificación, los factores sistémicos y externos, como: la infancia y la vejez, estados hormonales alterados (diabetes, hipotiroidismo, hipoadenocorticismo), adicionalmente, los cambios cualitativos en relación al pH (ácido), a la concentración de glucosa (elevada) y a la temperatura. (5, 10,13)

#### **5.1.11.2. Factores mecánicos**

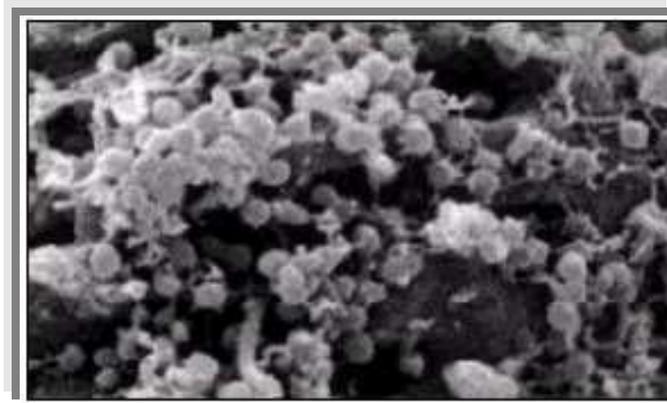
Trauma de tejidos blandos, mala higiene, tabaco y alcohol. En la cavidad oral Cambios epiteliales exógenos (trauma, oclusión, maceración). Cambios epiteliales endógenos (atrofia, hiperplasia, displasia). Factores salivales: cantidad (reducida) y tipo de saliva (xerostomía, síndrome de Sjörgren). Prótesis mal ajustadas.

#### **5.1.11.3. Factores iatrogénicos**

La administración de antibióticos y corticosteroides. Odds (1988). Terapia con inmunosupresores (quimioterapia antineoplásica, atrofia epitelial y neutropenia). Terapia con medicamentos (psicofármacos, antidepresivos, ansiolíticos, diuréticos y/o antihipertensivos, corticoides, antibióticos) (5, 11,12)

### **5.2. *Candida albicans* en endodoncia**

Esta levadura se encuentra en las infecciones endodóncicas persistentes debido a su virulencia y morfología capaz de vivir en zonas inaccesibles. Está involucrada en la infección extra-intrarradicular persistente, junto con *Enterococcus faecalis* y las *Pseudomonas*, ya que son capaces de resistir los cambios de ambiente efectuados durante y después de la terapia endodóncica, y de esta manera se involucra en el fracaso del tratamiento de conductos. Microorganismos que se pueden apreciar en la figura N° 1. (5, 7,9)



**Figura N° 1.** *Candida Albicans* y *Enterococcus faecalis* invadiendo los túbulos dentinarios. Tomado de Siqueira Jr. 2004.

La presencia de *Candida albicans* es básicamente infrecuente (10%) en infecciones primarias de conductos radiculares, a diferencia de las infecciones persistentes donde la *Candida* y el *Enterococcus*, en toda la flora son los más predominantes. (5, 7,9)

#### **5.2.1. Fracaso de la terapia Endodóncica**

Las causas de un fracaso endodóncico generalmente provienen de: Factores microbianos, debido a la persistencia de los microorganismos; Factores no microbianos, como, reacción tipo cuerpo extraño por material de obturación o puntas de papel dentro del conducto; Factores sistémicos, tales como: enfermedades que dificultan el proceso de reparación del tejido, esta causa de retratamiento es menos usual. Clínicamente el fracaso del tratamiento endodóncico, esta caracterizado por la presencia de las lesiones periapicales o sintomatología postratamiento, dichos aspectos revelan la persistencia microbiana, gracias a la presencia de factores de manutención, como: sustrato proveniente del conducto, restos de barrillo dentinario, espacios en la obturación, entre otros. (5, 6, 7, 8,13)

Al convertirse la microfiltración bacteriana, en la fuente principal de los fracasos en los tratamientos endodóncicos, se recalca que, esta flora exhibe particularidades superiores de virulencia y resistencia al tratamiento endodóncico convencional. Generalmente los microorganismos que conforman esta flora, son bacterias anaerobias facultativas gran (+).

Según Siren y cols. (1997), en su estudio demuestran que, dentro de los microorganismos directamente responsables con el fracaso endodóncico se hallan: *Enterococcus Faecalis* y *Candida albicans*, siendo estos comunes y capaces de manifestarse como una mono infección, cada uno, ya que por su capacidad patógena no necesitan del sinergismo (5,13)

Sjogren (1999), investigó, el tipo de flora microbiana, en la región periapical de dientes con fracasos del tratamiento endodóncico a través de biopsias. El análisis histológico de las muestras periapicales mostraron, gran cantidad de *Actinomyces Israeli*, *Actinomices Odontilyticus*, *Streptococcus Constellatus*, *Propionibacterium Acnes*, *Campylobacter* y *Candida albicans*. (5, 7, 9,13)

Sundqvist (1998), mediante aislamiento bacteriano, después, de recolectar muestras de paredes dentinarias de conductos con fracasos en el tratamiento radicular, determinó que, las especies encontradas fueron entre otras bacterias como *Enterococcus*, *Peptoestreptococcus* y las levaduras tipo *Candida albicans*. (8,10.13) (Tabla N° 1)

Especies microbianas	Número de casos
<i>Enterococcus faecalis</i>	9
<i>Actinomices israeli</i>	3
<i>Bacteroides gracilis</i>	3
<i>Streptococcus anginosus</i>	2
<i>Peptostreptococcus micros</i>	2
<i>Candida albicans</i>	2

**Tabla N° 1.** Aislamiento de microorganismos en canales tratados. (Sundqvist 1998.)

Nair (2002), presentó en su estudio con análisis de microscopía electrónica de barrido a colonias bacterianas y presencia de gran cantidad de levaduras *Candida albicans* en muestras periapicales de dientes con fracaso en el tratamiento endodóncico. (11, 12,13)

En otra investigación, Sen y cols. (1995), por microscopía electrónica, observaron la presencia de levaduras en 4 de 10 muestras, de canales tratados con periodontitis apical persistente. (8)

De esta forma, se puede constatar que dentro de los microorganismos presentes en los fracasos de los tratamientos endodóncicos, también se encuentra *Candida albicans*.

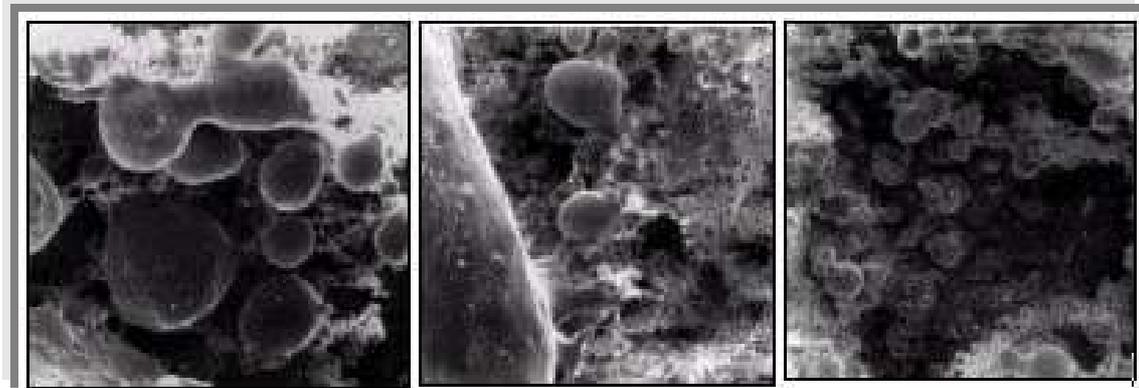
### **5.2.2. Persistencia de *Candida albicans***

La microbiota resistente al tratamiento endodóncico se caracteriza por presentar alta virulencia y capacidad de sobrevivir en condiciones no viables para el microorganismo.

En el reporte microbiológico de un estudio realizado por Waltimo (1999), de prevalencia de *Candida* en los tratamientos endodóncicos re infectados, ha demostrado que se encuentran en un 60 % y que todas las cepas de *Candida* aisladas pertenecieron a la especie *albicans*, por tanto, le asocian a esta levadura como parte de la microbiota responsable de Periodontitis apical crónica persistente después de tratamientos endodóncicos, el autor manifiesta además que entre una de las razones de supervivencia de *Candida albicans* se debe al sinergismo que tiene con: *Acitnomyces* y *Enterococcus faecalis*.

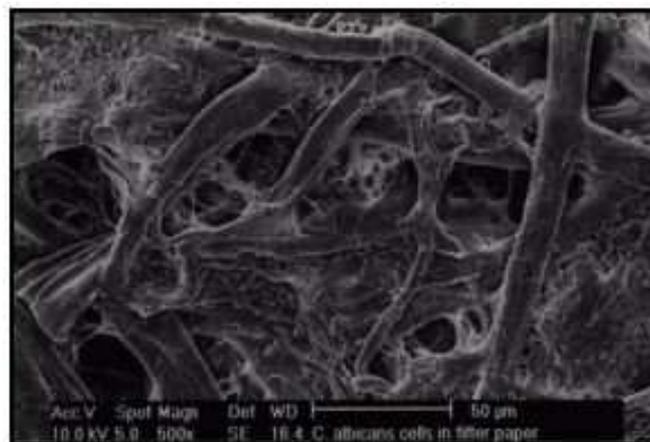
Bender y Seltzer (1952), reportan la presencia de microorganismos resistentes a la terapia endodóncica, de esta manera evidenciaron la presencia de crecimiento microbiano, el cual consistía básicamente en *Candida albicans* y bacterias tales como *Enterococcus*. (8, 10,13)

No obstante, Ferreira y cols. (2004), en un estudio microbiológico con microscopía electrónica de barrido a muestras radiculares con periodontitis apical crónica persistente después del tratamiento quirúrgico apical, se demostró la presencia de cocos, bacilos y levaduras adheridas a la superficie radicular seccionada. (8, 10,13) (Figura N° 2)



**Figura N° 2.** Foramen lingual mostrando reproducción de levaduras adheridas a la gutapercha extruída del foramen lingual. Tomado de Ferreira, 2004

En un estudio efectuado por Peciulienė y cols. (2000), corrobora los resultados obtenidos por investigaciones previas que reportan la presencia de *Candida albicans*, en 20 de 33 dientes tratados endodóncicamente con periodontitis apical crónica persistente. (Figura N° 3)



**Figura N° 3.** Microfotografía al Microscopio Electrónico de Barrido mostrando levaduras en las fibras periapicales. Tomado de Waltimo, 1999

Waltimo y cols. (1999), llevaron a cabo un estudio donde examinaron la frecuencia de aparición de *Candida albicans* en 103 granulomas periapicales persistentes utilizando en método de hibridación ADN-ADN. En 68 de las muestras fue posible la extracción de ADN de los cuales 48 evidenciaron la presencia de *Candida albicans*. (8, 10,13).

Spratt (2001), publica, que la persistencia de *Candida* esta relacionada con el Biofilm bacteriano, que afecta a la difusión e ingreso a los túbulos dentinarios de la solución irrigante. Sundqvist. (1998), adicionalmente refiere que, la interacción de la solución irrigante con los fluidos del tejido, sangre y dentina, son capaces también de inactivar al químico perdiendo sus propiedades antimicrobianas, y de esta forma no ataca a la levadura (13). Por otro lado Waltimo y cols. (1998), atribuyen en su estudio que, la permanencia de esta levadura, se da por la resistencia que presenta al hidróxido calcio, ya que, así lo demostró cuando se incubo e inoculó la levadura en la solución de hidróxido de calcio para varios períodos de tiempo. (1). Además, Hoog y Guarro (1995), refieren que los túbulos dentinarios al medir 2.5um y *Candida albicans* 0.3-0.8um, hace que sea posible el ingreso permanente de esta levadura hasta después del tratamiento endodóncico. (8)

### **5.2.3. Resistencia de *Candida albicans* a los medicamentos**

*Candida* es una célula eucariota, que se caracteriza por presentar estabilidad genética ya que posee escasa capacidad de producir mutaciones. Dicha estabilidad evita que se produzcan grandes cambios de una generación a otra.

Por lo tanto, se entiende que una mutación que suponga un gran cambio en la configuración genética de un organismo eucariota es lo excepcional. Por ello, resulta llamativo el descubrimiento que la doctora Judith Berman, profesora de genética, quien publica en la revista 'Science'. Cómo '*Cándida albicans*' puede duplicarse por medio de mutaciones, responsables de las resistencias a algunos medicamentos (antifúngicos) y éstos se vuelven ineficaces para el control de la infección. (15,17)

#### 5.2.4. Tratamiento en Endodoncia

En camino de evaluar y determinar mecanismos de eliminación de estos patógenos, se han realizado estudios sobre la sensibilidad de *Candida albicans* a ciertas soluciones antisépticas y medicamentos endodóncicos.

Torabinejad, Ferraz y cols. (1993), demostraron la efectividad de la clorhexidina en gel como medicamento intraconducto e irrigante endodónico, en comparación con otros irrigantes como: el hipoclorito de sodio al 1%, para eliminar el *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*, por lo que, concluyeron que la clorhexidina tiene la actividad antimicrobiana más potente contra levaduras y bacterias. (29,30). A su vez, Waltimo y cols. (1999), realizaron un estudio enfocado a evaluar la sensibilidad de *Candida*. al hidróxido de calcio, determinando que estas cepas presentaron alta resistencia a la solución saturada de hidróxido de calcio. (8)

Según los resultados obtenidos por el estudio de Siqueira (1997), donde fue evaluado in vitro la actividad antimicrobiana de clorhexidina e hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones sobre diversos microorganismos entre los cuales se encontraba *Candida albicans*, demostraron que, la Clorhexidina al 2% en gel y líquida es capaz de eliminar a *Candida albicans* en 15 segundos. (13,30). En otro estudio realizado por Hayhan y cols. (1999), de eficacia antimicrobiana de varios irrigantes ante *Candida albicans* determinaron que el hipoclorito de sodio al 5.25%, mostró eficacia superior en comparación al hipoclorito de sodio al 0.5%, hipoclorito de sodio al 2%, e inclusive sobre la clorhexidina al 2%. (13). Por otro lado la actividad antimicrobiana que posee el hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones ante *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces israeli*, *A. naeslundii* ha sido estudiado por Radcliffe y cols. (2004), demostraron que, el *Enterococcus faecalis* fue resistente a todas las concentraciones de hipoclorito de sodio pero que *Candida albicans* demostró susceptibilidad al hipoclorito de sodio al 2%. (3). Se han realizado otros estudios en busca de encontrar sustancias capaces de eliminar letalmente a esta levadura. Según De Luca (2001), sugieren que el EDTA produce inhibición del crecimiento de microorganismos micóticos como la *Candida albicans*, por lo tanto, concluyen que, aunque el EDTA no se comporta como antifúngico puede inhibir el desarrollo de las hifas, esporas y de esta manera ataca a la levadura. (41)

#### **5.2.4.1 Tratamiento farmacológico coadyuvante**

En la microbiota de infecciones endodóncicas persistentes no solo se encuentra involucrada *Candida albicans*, ya que si fuera así, el tratamiento sistémico ideal a más de la terapia endodóncica sería: Ketoconazol, Fluconazol, Metronidazol, Nistatina. Pero al tener a otros microorganismos como bacterias anaerobias facultativas gram (+), la terapia endodóncica necesita de un coadyuvante (antibiótico y antimicótico) capaz de ayudar a inhibir la microbiota de la zona que suele ser la combinación de Amoxicilina y metronidazol, sin embargo existen otras opciones de medicamentos con efectos colaterales inferiores pero de igual manera muy eficaces contra esta levadura y resto de microorganismos como: Dalacin, Unazyn ya que son de amplio espectro. (7,15,17)

### **5. 3. Irrigantes en endodoncia**

La morfología del sistema de conductos genera dificultades al profesional para lograr el total desbridamiento del contenido radicular, puesto que, tan solo la instrumentación manual no brinda acceso a todas las estribaciones de éste. Por tal razón, se ve obligado a utilizar sustancias irrigantes que le permitan llegar a estas zonas con el fin de obtener una mejor desinfección del canal radicular. Es por ello que dentro de los objetivos principales de la terapia endodóncica es lograr la limpieza completa del sistema de conductos para así poder garantizar el éxito del tratamiento, para cumplir dicho objetivo se utiliza la irrigación con diferentes soluciones. Sin embargo la completa desinfección de la zona radicular, no sólo se obtiene eliminando el tejido orgánico sino también los productos producidos por la instrumentación, por lo que, se deben utilizar irrigantes que eliminen la sustancia orgánica e inorgánica. (18, 22, 24, 46,48)

#### **5.3.1. Irrigación en Endodoncia**

Es el lavado de las paredes radiculares con diferentes soluciones antisépticas, que involucra además la aspiración de su contenido ya sea con dispositivos como aparatos de succión o conos de papel. (18,20, 46,48)

### **5.3.1.1 Reseña histórica**

En 1847, Semmelwei introduce el hipoclorito de sodio y se aplica en el área médica, para la desinfección de manos. A nivel endodóncico directamente en irrigación se usa por primera vez en 1893, por Schreier, quien retira tejidos necróticos mediante la introducción de potasio o sodio metálicos en los conductos radiculares, produciendo según el autor "fuegos artificiales". Más tarde Henry Dakin en 1915 comienza a usar el hipoclorito de sodio al 0,5% "Solución de Dakin", para el manejo de las heridas por lo que, con el transcurso del tiempo aparecieron numerosas soluciones que contenían cloro. Posteriormente en 1930 y 1940 se adicionan enzimas proteolíticas que poseen la capacidad de disolver los tejidos. Sin embargo estas enzimas no obtuvieron una amplia aceptación y mostraron tener una reducida eficacia para diluir el tejido necrótico dentro de los sistemas de conductos radiculares. En esta misma época se usa el agua destilada, ácido clorhídrico al 30% y ácido sulfúrico al 50% como irrigantes endodóncicos sin entender los efectos contraproducentes que estos agentes producirían a los tejidos periapicales.

Posterior a esto Grossman en 1941, introduce para la irrigación del sistema de conductos radiculares al peróxido de hidrógeno combinado con el hipoclorito de sodio, alternadamente ya que éstos brindaban mayor limpieza, debido a la efervescencia del oxígeno naciente que libera el agua oxigenada. Más tarde Richmann en 1957, utiliza por primera vez al cavitron con soluciones irrigantes durante el sistema de irrigación de conductos obteniendo buenos resultados. (18,21, 46,48)

### **5.3.1.2. Objetivos de irrigación en Endodoncia**

- Limpieza o arrastre físico de restos de pulpa, sangre líquida o coagulada, virutas de dentina, plasma, exudados, restos alimenticios etc., con el fin de evitar el taponamiento del conducto.
- Acción detergente y de lavado por la formación de espuma y burbujas de oxígeno de los medicamentos usados.
- Acción antiséptica o desinfectante.
- Acción lubricante propia de los fármacos empleados en las paredes dentinarias.
- Eliminar la capa de desecho.

- No debe destruir el tejido colágeno, ya que este permite la adhesión química de los cementos obturadores (8,10,13, 46,48)

### **5.3.1.3. Características de un irrigante ideal**

- Disolver tejido vital y no vital.
- Bactericida y/o bacteriostático
- No debe lesionar los tejidos periapicales, por lo tanto deben ser poco citotóxicos.
- Baja tensión superficial.
- Lubricante.
- Fácil manipulación y colocación dentro del conducto.
- Acción rápida y sostenida.
- Eliminación de la capa superficial de barrillo dentinario: Aquella capa que se forma superficialmente de desechos diseminados sobre las paredes del conducto luego de prepararlo.
- Disponibilidad en el mercado.
- Costo moderado.
- De fácil almacenaje. (8, 10,13, 46,48)

### **5.3.2. Soluciones actuales para irrigación del conducto radicular**

#### **5.3.2.1. Solución salina**

La solución salina usada como irrigante es el más biocompatible que existe con los tejidos dentales, puede utilizarse como único, alternado con otros irrigantes o como último cuando se desea eliminar el remanente del líquido anterior ya que minimiza la irritación y la inflamación de los tejidos, sin embargo es poco recomendada por los investigadores debido al efecto antimicrobiano que carece y a la capacidad disolutiva de tejido mínima, si se compara con el hipoclorito de sodio. (46,48)

#### **5.3.2.1.1. Ventajas**

- Produce gran desbridamiento y lubricación.
- No produce daños conocidos en el tejido.
- Tiene acción de lavado. Controla sangrados profusos. (23,25,46)

#### **5.3.2.1.2. Desventajas**

- Contribuye a la formación de barrillo dentinario posiblemente contaminado.
- Es susceptible de contaminarse con materiales biológicos extraños por una manipulación incorrecta antes, durante y después de utilizarla.
- No destruye químicamente la materia microbiológica.
- No hay disolución de los tejidos mecánicamente inaccesibles.
- La solución salina isotónica es demasiado débil para limpiar los conductos concienzudamente. (23,25, 46,48)

#### **5.3.2.2. Clorhexidina**

La clorhexidina es un compuesto antibacteriano con base fuerte y dicatiónica, de dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno. La naturaleza dicatiónica de la clorhexidina la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo cual es relevante para su eficacia, seguridad, y efectos secundarios locales. (34, 38, 46,48). Esta solución puede aparecer como digluconato, gluconato o acetato de clorhexidina, sin existir diferencias en el mecanismo de acción de sus diferentes formas químicas. (34, 37,39, 46,48)

##### **5.3.2.2.1. Mecanismos antibacteriano**

**5.3.2.2.1.1. Absorción.** La solución absorbe a la célula debido a la carga negativa de la pared celular bacteriana. La cantidad absorbida, depende de la concentración utilizada, por tanto a mayor concentración, mayor acción sobre los microorganismos.

**5.3.2.2.1.2. Daño de las barreras de permeabilidad en la pared celular.** La absorción conlleva a una alteración de la movilidad electroforética y del intercambio iónico, originando trastornos metabólicos de las bacterias.

**5.3.2.2.1.3. Precipitación proteica en el citoplasma bacteriano.** Acto seguido, permite la disociación de los componentes intracelulares, logrando una precipitación e inactivando sus procesos reproductivos y vitales. (34, 35, 40, 46,48).

La clorhexidina se usa como irrigante endodóncico al 2% y ha demostrado ser un potente antibacteriano como el hipoclorito de sodio, pero a diferencia de éste, continúa su liberación por un período de 48 a 72 horas posterior a la instrumentación. Si es utilizado al 0.2% causa mínima toxicidad al tejido, pero su capacidad antibacteriana podría ser reducida, aunque su prolongada presencia dentro de un conducto puede ayudar a la acción antibacterial. (35, 38,40, 46,48)

**5.3.2.2.2. Ventajas**

- Excelentes propiedades antibacterianas contra bacterias gram-positivas y negativas, levaduras, virus como el Sida.
- Un buen sustituto en pacientes alérgicos al hipoclorito de sodio.
- Indicado en dientes con ápices muy abiertos o en dientes con perforaciones.
- No causa inflamación periapical excesiva si se extravasa al periápice como lo hace el hipoclorito de sodio.
- No es cáustico.
- Fácil almacenamiento y manipulación.
- Tiene baja tensión superficial por lo que posee la capacidad de penetrar 100 milímetros de profundidad en los túbulos dentinarios.
- Sustantividad. (34, 35, 36, 37, 38, 39,40, 46,48, 52)

**5.3.2.2.3. Desventajas**

- No disuelve el tejido pulpar.
- Causa toxicidad baja en los tejidos. (34, 35, 36, 37, 38, 39,40, 46,48)

Al carecer la clorhexidina del efecto disolvente de tejido, es necesario valernos de otros métodos para perfeccionar la limpieza de los conductos, como por ejemplo, combinarla con otras soluciones irrigadoras, o valernos de vibración ultrasónica. (35, 37,39)

Al alternar el empleo de hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina se obtiene como resultado la reducción de la flora microbiana en un mejor porcentaje (84.6%), a diferencia con el uso individual del hipoclorito de sodio que reduce la flora bacteriana en un (59.4%), o gluconato de clorhexidina (70%), posiblemente se debe a la siguiente reacción:

- La clorhexidina al ser una base es capaz de formar sales con un número de ácidos orgánicos.
- El hipoclorito de sodio al ser un agente oxidante, tiene la capacidad de oxidar el gluconato a ácido glucónico. El cloro puede ser adicionado al componente guanina de la molécula de clorhexidina, formando cloruro de clorhexidina. Si esto pasara, se puede incrementar la capacidad ionizante de la molécula de clorhexidina y la solución puede elevar su pH., de la siguiente manera: Hipoclorito de sodio al 2.5% pH=9 y Gluconato de clorhexidina 0.2% pH=6.5, por tanto la combinación de las soluciones elevaría el pH=10. (35, 37,39, 46,48)

El gluconato de clorhexidina en una concentración al 0.2% es ampliamente prescrito post cirugía dental como un lavado oral antiséptico ya que presenta un amplio espectro antimicrobiano. Adicionalmente, esta solución presenta tener propiedades antimicóticas, ya que impiden la adherencia de la levadura hacia los tejidos radiculares y células de la zona e inhibe la formación de tubos germinales. Estudios in vitro e in vivo así lo comprueban Salem y cols. (1987), MacNeill y cols. (1997), Giuliana y cols, (1999). (53). White y cols. (1997), investigaron el efecto residual de la clorhexidina (0,12%, 2%), sobre la dentina después de instrumentar e irrigar conductos monorradiculares recién extraídos, los resultados fueron excelentes en cuanto a la inhibición de crecimiento bacteriano, hasta 72 horas con la concentración de 0,12% y por más de 72 horas con la concentración al 2,0%. Concluyeron que, esta solución puede ser utilizada como irrigante y más aún, como medicamento intraconducto entre citas para controlar la infección. (48).

El Propósito del este estudio de: Da Silva y cols. (2008), era evaluar la efectividad de soluciones irrigantes como: (Hipoclorito al 1%, Hipoclorito de sodio al 2%, Digluconato de clorhexidina al 2% Gllutaraldeido al 100% y vinagre), en la desinfección de trescientos cincuenta espécimenes de resina acrílica contaminada in vitro con microorganismos como: *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Steeptococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Bacilos subtilis*. Las trescientos cincuenta espécimenes de resina acrílica fueron contaminadas con  $1 \times 10^6$  de microorganismos mencionados para después ser sumergidos durante 10 minutos en los desinfectantes también ya mencionados. Los resultados estadísticamente comparados y analizados mediante unidad de colonias formadora, demostraron que: Digluconato de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 2%, glutaraldeido al 100%, eran muy eficaces eliminando estos microorganismos analizados, seguido por el vinagre- Por lo tanto concluyeron que: La clorhexidina al 2% e hipoclorito al 2%, glutaraldeido 100%. y vinagre al 100% son alternativas válidas para eliminar este tipo de microbiota. (55)

Por otro lado Leonardo, y cols. (1999), evaluaron la respuesta inflamatoria en cavidades peritoneales de ratones, a un grupo le inyectaron hipoclorito de sodio al 5% y al otro clorhexidina al 2%, los animales fueron sacrificados a las 4, 24, 48 horas y siete días después de la inyección para observar las células inflamatorias presentes, los resultados reportados presentaron en el grupo del hipoclorito de sodio gran migración de células mononucleares y neutrófilos en la cavidad peritoneal de las 48 a 168 horas. El grupo de la clorhexidina no produjo respuestas inflamatorias significativas. (35). A su vez, Kuruvilla (1998), reporta la alternativa de utilizar juntos a la solución hipoclorito de sodio al 2.5%, y gluconato de clorhexidina al 0.2%, en tratamientos endodóncicos, ya que reducen la microflora presente, de esta forma el autor refiere que, entre estas dos sustancias coexiste un sinergismo, al ser la clorhexidina una base tiene la capacidad de formar sales con ácidos orgánicos y el hipoclorito de sodio es un agente oxidante capaz de formar cloruro de clorhexidina, transformándose en una molécula más alcalina con un pH de 10 incrementando la ionización de la molécula de clorhexidina ejerciendo mejor acción antibacterial que las especies no ionizadas.(48)

Leonardo y cols. (2001), en un estudio in vitro en busca de la efectividad antimicrobiana del gluconato de clorhexidina al 2,0%, demostró que esta solución, es altamente eficaz contra microorganismos que han sido asociados a casos de infecciones endodóncicas persistentes o resistentes al tratamiento, como el *Estafilococcus aureus*, *Estafilococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, y *Cándida albicans*. (35)

Debido a las propiedades que la clorhexidina posee, es favorable también para el punto de vista restaurativo de las piezas dentales ya que al no destruir el colágeno permite mayor adhesión dentaria de los materiales restaurativos, por tanto, este medicamento es apropiado como irrigante cuando se va a restaurar el diente con materiales adhesivos. También la clorhexidina es utilizada como medicamento intracanal, cuando se realiza tratamiento en dos citas en combinación con hidróxido de calcio para disminuir el dolor leve, moderado o severo. (40, 46,48)

### **5.3.2.3. Hipoclorito de sodio**

El hipoclorito de sodio es una sal formada de la unión de dos compuestos químicos:

- Ácido hipocloroso: HOCl
- Hidróxido de sodio, que presenta propiedades oxidantes: NaOH.



#### **5.3.2.3.1. Breve reseña histórica del Hipoclorito de sodio**

En el siglo XIX, Henry Dakin recomienda por primera vez el uso del hipoclorito de sodio como una solución antiséptica para la irrigación de heridas para los soldados en la primera guerra mundial, debido a, sus propiedades desinfectantes. En 1920 se usa el hipoclorito en endodoncia en concentraciones de fórmula de Dakin, 0.5%. Fórmula de Dakin= hipoclorito de sodio al 0.5% neutralizado + ácido bórico al 0.4%. (26, 28, 30,46)

El hipoclorito de sodio es la solución irrigadora más utilizada en la práctica endodóncica actual, ya que reúne la condiciones ideales de un irrigante, por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital y además de poseer un amplio efecto

antibacteriano, eliminando rápidamente bacterias, esporas, hongos y virus (incluyendo el Sida, Rotavirus y el virus de la hepatitis A y B). (31,46)

#### **5.3.2.3.2. Mecanismo de acción**

Las propiedades antimicrobianas y solventes del hipoclorito se desarrolla primariamente debido a:

- Habilidad del hipoclorito de sodio de oxidar e hidrolizar las proteínas celulares
- Liberación de cloro, para formar ácido hipocloroso.
- Habilidad osmótica de extraer líquidos fuera de las células.

Por tanto, el ácido hipocloroso ejerce oxidación a los grupos sulfhidrilos de los sistemas enzimáticos de las bacterias, de esta manera provoca un desorden importante en las reacciones metabólicas, hasta conllevar a la muerte bacteriana. Su acción antimicrobiana también se ve reflejada cuando el ácido hipocloroso entra en contacto con las proteínas tisulares, haciendo que se formen hidrógeno, formaldehído y acetaldehído para causar ruptura de las cadenas peptídicas y disolución de las proteínas. En este proceso el hidrógeno es sustituido por el cloro con formación de cloramina, que interviene directamente como antimicrobiano, ya que interfiere en la acción oxidativa celular con inactivación enzimática irreversible en la degradación de lípidos y ácidos grasos, de este manera el hipoclorito de sodio disuelve el tejido necrótico y penetra para limpiar mejor las áreas infectadas de dentina. (27, 29, 30,33, 46,48)

#### **5.3.2.3.3. Ventajas**

- Tiene un pH alcalino entre 11.5 a 11.7.
- Es excelente lubricante y blanqueador.
- Posee una tensión superficial baja.
- Posee una vida media de almacenamiento prolongada y es bajo costo.
- Efecto lubricante que favorece la acción de los instrumentos.
- Disuelve tejido vital y no vital-
- Amplio efecto antibacteriano, contra: Bacterias, Hongos, Esporas y Virus. (32,33, 46,48)

#### **5.3.2.3.4. Desventajas**

- Es irritante citotóxico para el tejido periapical si éste es extravasado.
- Sabor inaceptable por los pacientes
- No remueve la capa de desecho, ya que solo actúa sobre la materia orgánica de la pulpa y predentina. (26,28,30,32,33)

#### **5.3.2.3.5. Presentación**

Las concentraciones con aplicación clínica se presentan desde el 0.5% hasta el 5.25%. Las diluciones que se practiquen a estas concentraciones están directamente relacionadas con la disminución significativa de las propiedades: antibacterianas, tóxicas, disolutivas del tejido y propiedad de desbridamiento del conducto. (27, 29, 30, 32,33)

Siqueira y cols (2000), Constataron los efectos antibacterianos en endodoncia del hipoclorito de sodio al 1%, 2,5% y 5,25% y concluyeron que, el uso de grandes cantidades del irrigante mantiene la efectividad antibacteriana del hipoclorito de sodio, compensando los efectos de concentración. (48)

Walton, Rivera y cols en (1997), recomiendan diluir el hipoclorito de sodio al 5,25% en partes iguales con agua para obtener una solución al 2,6%, ya que esta última, es tan eficaz como la solución de hipoclorito de sodio al 5.25%. (48)

Clegg (2006), afirma que la única concentración capaz de volver no viables a las bacterias, es el hipoclorito de sodio al 6%. Carson y cols. (2005), estudiaron in vitro, zonas de inhibición bacteriana de varias soluciones y llegaron a la conclusión que, el hipoclorito de sodio al 6% es más efectivo que al 3%. Sin embargo, Siqueira y cols. (2000), Baumgartner y Cuenin. (1992), encontraron que, la concentración de la solución de hipoclorito de sodio no es tan importante como el cambio constante de la solución y su uso en cantidades significativas. (50) Trepagnier, demostró que el hipoclorito de sodio al 5.25% o al 2.6% tiene el mismo efecto cuando se utiliza en endodoncia durante un período de 5 minutos. Rubin por otra parte, demostró que el hipoclorito de sodio 2.6% solo es un solvente excelente de la predentina y del tejido, más no, un buen antimicrobiano. (51)

Orstavik y Haapasalo (1990), analizaron la sensibilidad de *Candida albicans* al hipoclorito de sodio al 2.5% y 5.25%. Los resultados demostraron que la susceptibilidad de la levadura a estas concentraciones es menos esperado ya que sobrevivieron a condiciones bastante hostiles, Sin embargo, las bacterias fueron eliminadas rápidamente. (3)

Siren (1999), determinó que, el hipoclorito de sodio era el desinfectante más eficaz en las concentraciones 5% y 0.5% de ya que eliminó a la levadura albicans en 30 segundos. (8)

Waltimo (1999), determinó que el hipoclorito de sodio al 5.25% es efectivo contra la levadura *Candida albicans*, en comparación con otros medicamentos como el hidróxido de calcio. (8)

Por otro lado, Siqueira (1998), en su investigación refiere que el hipoclorito de sodio 0.5% al comportarse menos citotóxico, no es capaz de eliminar los microorganismos como *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. (3)

Yesilsoy y cols, (1995), determinaron in vivo e in vitro la susceptibilidad de ciertos microorganismos como: *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis* ante soluciones de hipoclorito de sodio y clorhexidina. Los resultados demostraron que la clorhexidina al 0,12% es tan efectivo como el hipoclorito de sodio al 5,25% contra todos los microorganismos utilizados en el estudio, sin embargo el hipoclorito de sodio a bajas concentraciones (2,5%, 0,5%) resultó ser menos efectivo. (25,40)

Hasselgren refiere que el tratamiento preliminar del tejido con hidróxido de calcio aumenta el efecto de disolución del tejido con el hipoclorito de sodio. Fischer y Huerta consideran que la propiedad alcalina (pH de 11.0 a 11.5) es lo que le confiere su eficacia contra microbios anaerobios obligados en 5 minutos. (51).

Byström y Sundqvist (1976), demostraron que el hipoclorito de sodio al 5.25% y al 0.5% poseen la misma eficacia contra casi todas las bacterias anaerobias, y que la combinación del hipoclorito de sodio al 5.0% con EDTA aumentaría de sobremanera el efecto bactericida, esta acción se debería a que el EDTA es capaz de retirar la capa de desechos y de esta forma permite el ingreso del hipoclorito de sodio

hacia los túbulos dentinarios. Se ha destacado además que, el hipoclorito de sodio en toda su potencia y el Gly-oxide (peróxido de urea) utilizados de manera alternativa, eran 100% eficaces contra *Bacteroides*, *Enterococcus* y levaduras considerados como patógenos endodóncicos. (51)

### 5.3.2.3.6. Factores que afectan las propiedades del hipoclorito de sodio

Se ha reportado que factores como el aire, la luz, la temperatura, los metales y los contaminantes orgánicos afectan la eficacia de la solución. (27, 46,48)

#### 5.3.2.3.6.1. Efectos de la temperatura

Al aplicar calor a una solución se aumenta la energía cinética de las moléculas, las cuales contactarán más rápido y producirán la desintegración de las superficies que contacten en un tiempo menor. Por lo tanto el aumento de temperatura tiene un efecto positivo sobre la acción disolvente del hipoclorito de sodio. (46)

##### 5.3.2.3.6.1.1. Acción del hipoclorito a diferente temperatura

Cunningham (1980), demostró que el hipoclorito de sodio al 5.25% y 2.6% era igual de eficaz a una temperatura corporal de 37° C. Sin embargo a temperatura ambiente (21° C), la solución al 2.6% resultaba menos eficaz. Gambarini (1998), comprueba que al aumentar la temperatura al hipoclorito de sodio mejora el desbridamiento, las propiedades bactericidas y disolutorias y que este aumento no afecta la estabilidad química de la solución, aunque recomienda cierta precaución ya que no se sabe que daño puede causar a los tejidos periapicales. (46,48) (Tabla N° 2).

TEMPERATURA	EFEECTO
NaOCl 2.6%, 5.2% a 37 °C	Disuelve colágeno
NaOCl 2.5% 35°C	Aumenta el poder solvente sobre tejidos necróticos
NaOCl 2.5% 60°C	Mayor efecto de disolución en tejidos frescos

**Tabla N° 2.** Acción del hipoclorito a diferente temperatura y concentración

#### **5.3.2.3.6.1.2. Aumento de temperatura**

##### **5.3.2.3.6.1.3. Ventajas**

- Aumenta su efecto bactericida.
- Mejora el desbridamiento, las propiedades bactericidas y disolutivas. (27, 29, 31,33)

##### **5.3.2.3.6.1.4. Desventajas**

- Al calentarlo a 37°C solo se mantiene estable por cuatro horas y luego se degrada.
- Científicamente hasta ahora no han demostrado que daño puede causar a los tejidos periapicales.
- Cuando se aumenta la temperatura, la solución tiende a deteriorarse a las 24 horas, por tanto se aconseja mantenerla a temperatura ambiente, y/o temperatura corporal para estabilizarlo. (27, 29, 31,33, 46,48)

#### **5.3.2.3.6. 2. Efecto de la dilución del hipoclorito de sodio**

Es otro factor importante en el deterioro de las soluciones ya que a menor dilución menor acción, por tanto en diluciones menores, las propiedades de hipoclorito de sodio son también mínimas. (26, 46,48)

##### **5.3.2.3.6. 2.1. Ventaja**

- Disminución de acción irritante en caso de sobrepase de irrigación
- A menor dilución menor olor a cloro. (26)

##### **5.3.2.3.6. 2. 2. Desventaja**

- Reducción elevada de la actividad antimicrobiana.
- Acción de desbridamiento reducida.
- Menor propiedad de disolución del tejido.
- Eleva el tiempo de exposición que se requiere para destruir los microorganismos. (26, 46,48)

Se ha demostrado que a mayor concentración el hipoclorito de sodio es más eficaz, por tanto la penetración en los túbulos dentinarios será mayor.

- NaOCl 1% penetra 100um.
- NaOCl 5% penetra 220um.
- NaOCl 25% penetra 350um.
- NaOCl 25% más EDTA 550um. (26, 46,48)

### **5.3.2.3.6. 3. Relación entre la concentración del hipoclorito de sodio con el deterioro de las soluciones**

Las soluciones que contienen 5% disponible de cloro han demostrado rápida descomposición a 24°C, mientras que en las soluciones de hipoclorito al 0.5% no se observa algún tipo de cambio. No debe utilizarse una dilución mayor de 1 a 1 de la concentración al 5,25% con agua destilada estéril, ya que esta reducción al 2.6% produce una solución que es sólo ligeramente más eficaz que el agua o solución normal. Por otra parte el contenido de cloro de las soluciones tiende a disminuir después que los envases sean abiertos, por lo que se recomienda el uso de soluciones frescas, igualmente refieren que los envases más recomendados son los de ámbar, seguidos de los de plástico opaco, verde y por último blanco. En vista de que el hipoclorito de sodio no cumple con dos propiedades como son baja toxicidad y eliminación de la capa de desecho, es necesario combinarlo con agentes quelantes u otros agentes irrigantes para poder lograr los objetivos de la irrigación del sistema de conductos. (28,33, 46,48)

### **5.3.2.4. Quelantes**

Las soluciones quelantes aportan un papel importante en el desbridamiento del sistema de conductos radiculares, por tanto estos cumplen la función de facilitar la preparación biomecánica, al desintegrar el barrillo dentinario, como también el componente calcificado y mineralizado de las paredes dentinarias, para de esta manera, permitir la travesía de la sustancia irrigante hacia los túbulos dentinarios y eliminar a los microorganismos vigentes en el conducto radicular.

Quelar descende del término griego "khele", que representa garra, por tanto, estas soluciones poseen la particularidad de excavar y formar complejos internos absorbiendo los iones metálicos del complejo molecular al cual se encuentran entrelazados, fijándolos por unión coordinada denominándose específicamente como quelación. Quelación es la exclusión de iones inorgánicos de la estructura dentaria mediante un agente químico, el cual capta iones metálicos tales como magnesio, calcio, sodio, potasio y litio, del complejo molecular a donde están adheridos. La acción de las soluciones quelantes es la descalcificación de un tejido mineralizado más la desmineralización. (41, 43, 45, 47,48)

#### **5.3.2.4.1. Propiedades de un Quelante ideal**

- Solvente de tejido y detritos.
- Baja toxicidad.
- Baja tensión superficial.
- Eliminar la capa de desecho dentinario.
- Ser lubricante, inodoro, incoloro y sabor neutro.
- Acción rápida.
- De fácil manipulación.
- Mecanismo de dosificación simple.
- Tiempo de vida útil adecuada. (41, 43, 45, 47, 48)

#### **5.3.2.4.2. Aplicación clínica del Quelante**

Se usa como irrigante, descalcificante de conductos calcificados y por poseer glicerina o cera a veces como lubricante. (46, 48)

#### **5.3.2.4.3. Modo de empleo y recomendaciones**

Se exhorta ha usarlos en conducto seco para que no pierdan su efecto, con movimientos de impulsión-tracción, ya que de no haberlos, el quelante empieza a actuar a las 24 horas por disociación iónica, acción que tiene como límite máximo de quelación hasta el quinto día. La literatura refiere además que, los movimientos que experimenta el quelante permite que el químico empiece a actuar a los sesenta

minutos, con un punto máximo de quelación a las 7 horas, del mismo modo se recomienda no usarlo más de 5 a 10 minutos, ya que después de este tiempo pierde su efecto de descalcificación, debido a la saturación de la solución. Se recomienda igualmente no usar el químico con la instrumentación más de cinco veces, por tanto, se debe esperar en cada intervalo tres minutos. (41, 43, 45, 47,48)

#### **5.3.2.4.4. Mecanismo de acción**

La solución quelante reacciona con los iones metálicos en los cristales de hidroxiapatita (magnesio, calcio, sodio, potasio y litio) para originar un quelato metálico, el cual reacciona con las terminaciones del agente quelante al revolver los iones de calcio de la dentina formando un anillo, y de este modo, la dentina peritubular especialmente rica en hidroxiapatita, se suaviza, por el cambio de las características de solubilidad y permeabilidad del tejido, que permite el incremento del diámetro de los túbulos dentinarios expuestos. (44, 46)

#### **5.3.2.4.5. Presentación**

Es el compuesto base para la fabricación de todos los quelantes que existen hasta el día de hoy en el mercado y se encuentra en concentraciones del 10% al 17%.(44,46)

#### **5.3.2.4.5. Quelantes más usados en endodoncia**

Las soluciones quelantes son moléculas que se basan básicamente en el ácido etilendiaminotetraacético.(EDTA).

- EDTA : Ácido etilindiaminotetraacético
- RC-prep: Sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con peróxido de urea
- EDTAC : Sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con cetavlon o bromuro de cetil-trimetil-amonio. (44,46)

#### **5.3.2.4.5.1. EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético)**

Niniforuk describe y menciona por primera vez el EDTA en 1953 al encontrar que el calcio se comportaba altamente quelante con un pH6 y con pH de 7.5. Más tarde en 1957, Östby introduce como material quelante durante la terapia endodóncica, por diluir la dentina en cualquier clase de conductos y de esta manera disminuye el tiempo de trabajo, conjuntamente no es corrosivo para el instrumental y facilita el sobrepase a instrumentos fracturados, entre otros beneficios que encontró el autor. (42, 45, 47,48)

#### **5.3.2.4.5.1.2. Estructura química EDTA**

Es un catión quelante divalente y no coloidal, el cual contiene un grupo etilendiamino donde se pegan cuatro grupos diacéticos. El EDTA anteriormente era trisódico y por tanto, tenía buen efecto de quelación pero irritaba el periápice, debido a esto se volvió disódico. (44,46)

#### **5.3.2.4.5.1.2.3. Propiedades EDTA**

- Es relativamente poco tóxico, produce una reacción inflamatoria leve al contacto con tejido blando y al entrar en contacto con el tejido óseo este químico reacciona en forma similar que la dentina.
- La acidez del EDTA (pH7.3), es el mayor factor que afecta la limpieza del conducto debido a que cambia el PH durante la desmineralización jugando un papel importante en tres formas: 1.- La capacidad de quelación aumenta a medida que la acidez del EDTA disminuye. 2.- La solubilidad de la hidroxiapatita aumenta a medida que el pH disminuye. 3.-Al aumentar el pH se incrementa la penetración del EDTA hasta espacios reducidos
- Tiene la capacidad de quelar y eliminar la porción mineralizada del barrillo dentinario en las sales de calcio y en las calcificaciones de la dentina
- Puede descalcificar hasta 50µm del conducto radicular.
- Reduce a siete el grado de dureza de la dentina, que normalmente tiene una dureza de cuarenta y dos cerca de la luz del conducto no tratado.

- Posee un pequeño efecto antibacterial sobre ciertas especies bacterianas como *Streptococcus* alfa-hemolíticos y *Staphylococcus aureus*, y tiene un alto efecto antimicótico sobre *Candida albicans*. (42, 45,48)

#### **5.3.2.4.5.1.4. Aplicación clínica**

Varios estudios reportan que el quelante debe dejarse en el conducto durante por lo menos 15 minutos para que los resultados sean óptimos, sin embargo, en contra posición a esta teoría, otros estudios reportan que el tiempo de trabajo necesario para obtener la completa remoción de la capa de desecho es de 2-3 minutos o más. (42, 45,47)

La bibliografía también refiere que, el uso de EDTA en conductos curvos, favorece a la transportación o desviación de estos, debido a la capacidad de alisar y remover la dentina con facilidad, por tal razón, se aconseja que sea usado exclusivamente después de la preparación. (41,43, 46,48). El EDTA debe ir acompañado de un componente proteolítico como el hipoclorito de sodio con el fin de mejorar la eliminación de los componentes orgánicos e inorgánicos del barrillo dentinario. (45, 46,48). Adicionalmente se ha señalado que el régimen más efectivo para remover la capa de desecho es irrigar el conducto radicular con 10 ml de EDTA al 17 %, seguido de 10 ml de hipoclorito de sodio al 5%, aunque también se ha reportado que este método erosiona a los túbulos dentinarios. Por tanto es recomendable usar el EDTA en un período de tiempo menor a 2 minutos. (46,48).

A su vez, Calt y cols. (2000), recomiendan el uso de 10 ml de Ácido etilínglicolbistetraacético al 17% (EGTA) combinado con 10 ml de hipoclorito de sodio al 5,25%, ya que el EGTA es menos fuerte que el EDTA y efectivo en la remoción de la capa de desecho aunque en el tercio apical no es tan efectivo, pero no induce erosión en los túbulos dentinarios, por lo que se pudiera considerar un quelante alternativo para la remoción de la capa de desecho. (46,48). Por otro lado Weine (1997), sugiere que, al terminar la sesión el conducto debe ser irrigado con hipoclorito de sodio y una lima de pequeño calibre para asegurar la penetración del hipoclorito de sodio e inactivar la acción del agente quelante. (48).

En cuanto al efecto antimicótico, que esta sustancia quelante presenta es reducida, sin embargo, De Luca (2001), sugiere que el EDTA produce inhibición del crecimiento de microorganismos micóticos como la *Candida albicans*, por tanto, concluyen que, aunque el EDTA no se comporta como antifúngico puede inhibir el desarrollo de las hifas, esporas y de esta manera ataca a la levadura. (41). De la misma manera Medina (2006), refiere en su artículo que el EDTA, posee un pequeño efecto antibacterial pero, un alto efecto antimicótico sobre *Candida albicans*. (48)

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6. 1. Diseño del estudio**

Estudio comparativo, descriptivo y de laboratorio in vitro realizado en el laboratorio de microbiología de la Universidad San Francisco de Quito. Se emplearon cepas de *Candida* ATCC e irrigantes endodóncicos (Clorhexidina al 2.0%, Hipoclorito de sodio al 2.5%. Hipoclorito de sodio al 5.25%, EDTA al 17%). Posteriormente se determinó la susceptibilidad a estos irrigantes, resultado que fue posible analizar mediante mediciones de halo de inhibición, y eliminación o reducción de colonias de *Candida*. (1, 2, 3,4)

### **6.2. Metodología**

Todos los procedimientos que se realizan en el laboratorio lo hacen en un medio estéril, proporcionado por un mechero a gas.

Se requirió realizar dos análisis de laboratorio para una investigación más confiable.

#### **6.2.1. Fase 1: Evaluación de susceptibilidad de *Candida albicans* a soluciones irrigantes mediante halos de inhibición bacteriana**

##### **6.2.1.1. Materiales empleados**

- Discos de papel filtro de 6mm
- Cajas Petri.
- Vasos de precipitación de 40ml.
- Pinzas de algodón estéril de acero inoxidable (Dempher, Germany).
- Micropipetas de 100 ul digitales.
- Tubos de Eppendorf.
- Gradilla para tubos de Eppendorf
- Caja de hisopos. (Disamed Ecuador)
- Microscopio (Olimpos Germany).

### 6.2.1.2. Medios y soluciones usados

- 500cc Solución de hipoclorito de sodio al 2.5% (Farmacia Alemana, Quito Ecuador)
- 500cc Solución de hipoclorito de sodio al 5.25% (Farmacia Alemana, Quito Ecuador)
- 500cc Gluconato de Clorhexidina al 2.0% (Biolider, Cia Ltda, Quito Ecuador)
- 500cc EDTA 17% (Ácido etilindiaminotetraacético) (Farmacia Alemana, Quito Ecuador)
- 500cc Solución de hipoclorito de sodio al 6.5% (Farmacia Alemana, Quito Ecuador)
- 500cc Suero fisiológico (Lira Cia. Ltda. Quito Ecuador)
- Agua estéril
- Mueller Hinton agar (Quifatex, Quito Ecuador)
- Sabouraud agar (Quifatex, Quito Ecuador)

### 6.2.1.3. Muestra

#### 6.2.1.3.1. Microorganismos

Cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. (Figura N° 4)



Figura N° 4. Cepas *Candida albicans* ATCC

#### 6.2.1.3.2. Grupo de soluciones en estudio

Soluciones irrigantes estériles usadas en endodoncia como Clorhexidina 2.0%, Hipoclorito de sodio 2.5%. Hipoclorito de sodio 5.25%, EDTA 17%, (Farmacia Alemana, Quito Ecuador) (Biolider, Cia Ltda, Quito Ecuador). (Figura N° 5), (Tabla N° 3)



Figura N° 5. Soluciones de grupo de estudio

#### 6.2.1.3.3. Grupo control negativo

Se tomó al Suero Fisiológico (Lira Cia. Ltda. Quito Ecuador), que no presenta efectos antibacterianos. (1) (Figura N° 6), (Tabla N° 3)

#### 6.2.1.3.4. Grupo control positivo

Hipoclorito de sodio 6.5% (Farmacia Alemana, Quito Ecuador) potente antibacteriano. (1) (Figura N° 6), (Tabla N° 3)



**Figura N° 6.** Soluciones de grupo control positivo y negativo

	<b>Soluciones irrigantes</b>	<b>Número de ensayos</b>
<b>Grupo de estudio</b>	Clorhexidina 2.0%	10
	Hipoclorito de sodio 2.5%.	10
	Hipoclorito de sodio 5.25%	10
	EDTA 17%	10
<b>Grupo control positivo</b>	Hipoclorito de sodio 6.5%	10
<b>Grupo control negativo</b>	Suero fisiológico	10

**Tabla N° 3.** Grupos de estudio y ensayos

#### **6.2.1.4. Procedimiento de siembra**

Primero se prepararon los medios, para lo cual, se pesó en una balanza digital no analítica (Ohaus), 19.5gr de Sabouraud Agar, paralelamente en el matraz de Erlenmeyer se depositó 300ml de agua estéril y fue mezclado con el agar mediante movimientos de agitación con el fin de obtener una solución homogénea, posteriormente el matraz fue autoclavado, a 121° C por una hora, y enfriado a 45°-50°C. Después, 20 ml de la solución fue depositada en cajas Petri.

Una vez obtenido el medio Sabouraud selectivo para levaduras con pH 5.6, se tomó una colonia de *Candida albicans* ATCC con asa de platino estéril en mechero y se situó mediante estriamiento en el medio Sabouraud. Se dejó al medio en incubación a 37°C por 48. (Figura N° 7a, 7b), (Figura N° 8)



(a)

(b)

**Figura N° 7.** Preparación del medio Sabouraud (a); Sabouraud depositando en cajas Petri (b)



**Figura N° 8.** *Candida albicans* ATCC, en medio Sabouraud

### 6.2.1.5. Preparación de los irrigantes

La preparación de los irrigantes empleados comenzó con la medición del pH de cada solución, para verificar su efectividad.

- Hipoclorito de sodio 2.5%: pH 11.0.
- Hipoclorito 5, 25%: pH 11.5.
- Clorhexidina 2%: pH 7.0.
- EDTA 17%: pH 7.
- Suero fisiológico: pH 4.0.
- Hipoclorito de sodio 6.5%: pH 11.5.

Posteriormente, con una micropipeta de 1000 uL se tomó 800ul de cada irrigante (Clorhexidina 2%, Hipoclorito de sodio 2.5%, Hipoclorito 5, 25%, EDTA 17%, Suero fisiológico, Hipoclorito de sodio 6.5%) y se depositó en tubos de Eppendorf estériles que se encuentran en la gradilla, los mismos que fueron rotulados con las respectivas soluciones irrigantes. A continuación se tomó 10 uL de cada irrigante y se depositó en una caja Petri estéril. Se repitió este procedimiento 10 veces por cada solución. (Figura N° 9 y N° 10)



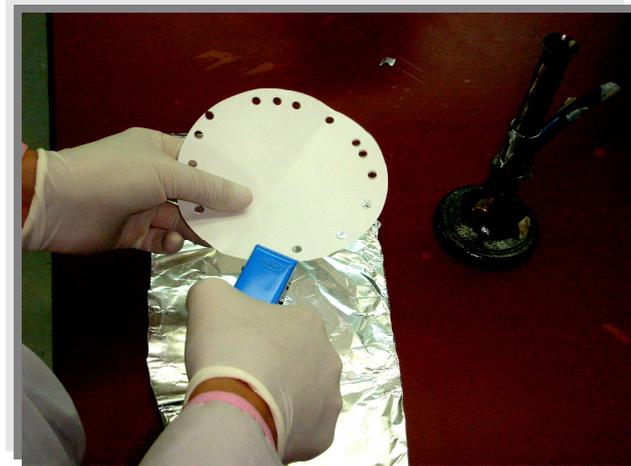
**Figura N° 9.** Tubos de Eppendorf con las soluciones irrigantes



**Figura N° 10.** Colocación de la solución irrigante en Caja Petri

### 6.2.1.6. Preparación de los discos de papel filtro

Se tomó una hoja de papel filtro, y se realizaron perforaciones circulares de 6mm con una perforadora. Luego, los discos de papel filtro fueron colocados en una caja Petri para ser autoclavada. (1, 2, 3,4). (Figura N° 11)

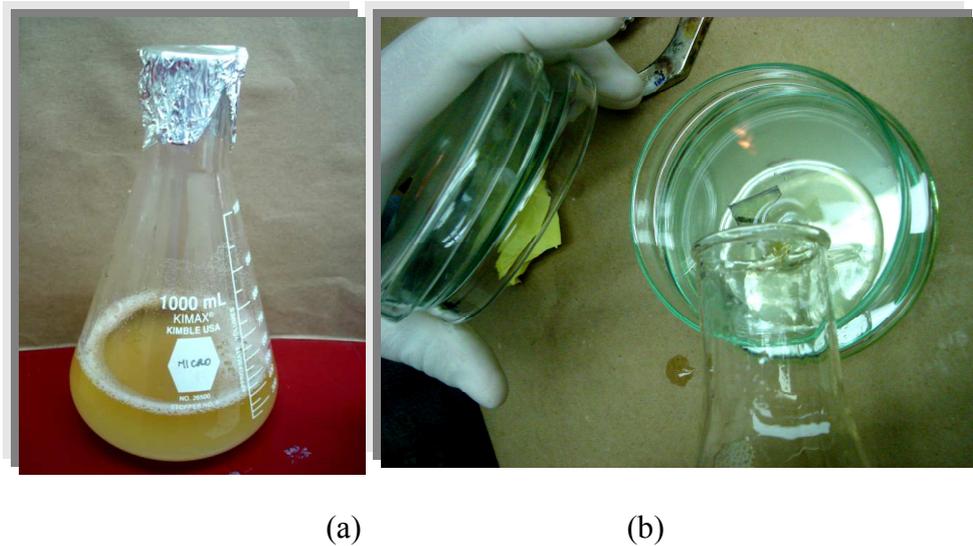


**Figura N°11.** Preparando discos de papel filtro

### 6.2.1.7. Test de halo de inhibición de levaduras

Para realizar el test de halo de inhibición de levaduras por difusión de agar se requirió preparar medios de cultivo **Mueller Hinton**, ya que según el Instituto de Estándar de Laboratorios Clínicos de EE UU para el mundo, recomiendan el uso de este medio en forma rutinaria para la realización de antibiogramas en medio sólido, ya que presenta muchos beneficios y permite que el test realizado sea efectivo. **Mueller Hinton** agar es recomendado universalmente para la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos. Es un medio selectivo con PH 7.3 para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes, lo que permitirá el desarrollo de esta levadura. (49). Para su preparación, se suspendió 37 g del medio deshidratado pesado en la balanza digital no analítica (Ohaus), en un litro de agua destilada que se encuentra en el matraz de Erlenmeyer, al mismo que se lo deja embeber de 10 a 15 minutos. Se homogeniza y calienta con agitación frecuente de forma manual. Posteriormente se esteriliza en la autoclave a 121 ° C durante 1 hora, para luego

enfriar a 45°-50°C y distribuir en 20ml sobre cajas Petri. Se rotuló a las cajas Petri con el nombre de cada solución en estudio. (Figura N° 12a, N° 12b, N° 13)



**Figura N° 12:** Preparación de Medio Mueller Hinton agar (a); Medio Mueller Hinton agar depositando en las cajas Petri (b)

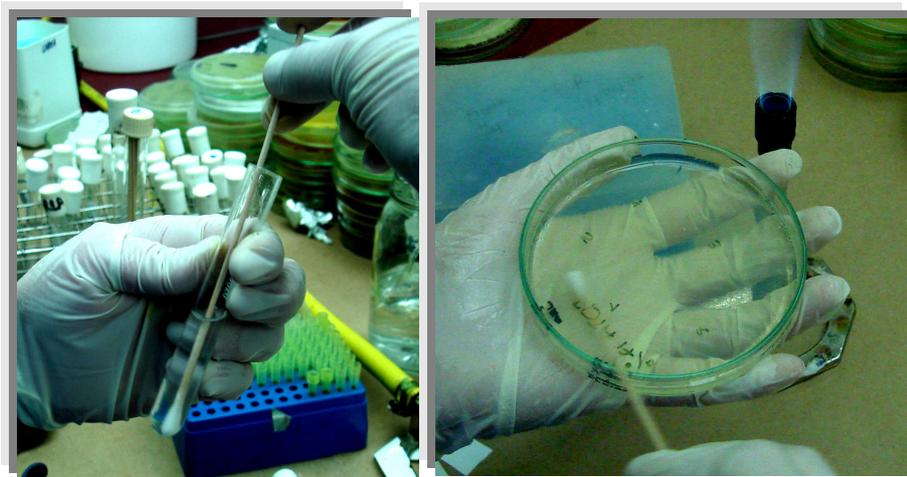


**Figura N° 13.** Rotulando el medio de cultivo

Acto seguido se realizó un traspaso posterior de la cepa al medio Mueller Hinton Agar, y permaneció en incubación a 37 °C por 48 horas, para facilitar el desarrollo y crecimiento de esta cepa en este nuevo medio. Consecutivamente se tomó con hisopo estéril una colonia de *Candida albicans* ATCC y se mezcló en un tubo de

ensayo con 10 ml de agua destilada estéril, la suspensión de microorganismos fue ajustada a escala Mc Farland 0.5, el cual es un método indirecto para evaluar el número de microorganismos presente mediante la turbidez, por tanto la concentración de la levadura *Candida albicans* correspondió a:  $1 \times 10^6$ . Posteriormente un hisopo estéril fue sumergido en el tubo de ensayo que contiene la solución (levadura mas agua destilada) para ser embebido y después se estrió de manera uniforme en el medio Muller-Hinton. Una vez sembrada la levadura en medio Muller-Hinton, se procedió a tomar con una pinza estéril en el mechero, un disco de papel filtro, para embeberlo durante quince segundos en cada solución irrigante a emplearse, y después colocarlos en los medios acondicionados con las levaduras. Se debe mencionar que una caja Petri fue capaz de sobrellevar cinco muestras de cada solución, y que el mismo protocolo se repitió durante diez veces por cada solución. Los medios con los antibiogramas fueron colocados en incubación durante 48 horas a 37 °C.

(Figura N° 14a, N° 14b, N° 15, N° 16a, N° 16b, N° 17)



(a)

(b)

**Figura N° 14.** Hisopo en suspensión de *Candido* (a); Sembrando *Candida albicans*. (b)



**Figura N° 15.** Tomando un disco de papel filtro



**(a)**

**(b)**

**Figura N° 16.** Embebiendo los discos de papel filtro en solución irrigante (a); Test listo en caja Petri (b)



**Figura N°17.** Cajas Petri con muestra en incubación

### 6.2.2. Fase 2: Evaluación de susceptibilidad de *Candida albicans* a soluciones irrigantes en tiempo. (Uno, tres y cinco minutos)

Para conseguir el tercer objetivo específico que fue evaluar de entre los desinfectantes estudiados su mayor efectividad antimicótica en cuanto al tiempo requerido para eliminación o reducción de colonias de *Candida albicans*, se requirió realizar otro procedimiento en el que se puso en contacto directo a la levadura *Candida albicans* con las soluciones irrigantes, por lo que, los materiales, soluciones y medios anteriormente descritos fueron de igual forma utilizados en este proceso. En este estudio se dividieron en diferentes grupos, como se puede apreciar en la Tabla N° 4.

	<b>Soluciones irrigantes</b>	<b>Número de ensayos en uno tres y cinco minutos</b>
<b>Grupo de estudio</b>	Clorhexidina 2.0%	5
	Hipoclorito de sodio 2.5%.	5
	Hipoclorito de sodio 5.25%	5
	EDTA 17%	5
<b>Grupo control positivo</b>	Hipoclorito de sodio 6.5%	5
<b>Grupo control negativo</b>	Suero fisiológico	5

**Tabla N° 4.** Grupos de estudio y ensayos.

#### 6.2.2.1. Preparación de la levadura previo a su conteo

Fue necesario la realización del conteo del número de microorganismos presente dentro de una levadura durante seis veces por cada solución para establecer un valor base de referencia y comparaciones con los resultados finales, por lo que, tomó una colonia de *Candida albicans* y se situó en 5ml de agua destilada estéril que se encuentra en un tubo de ensayo, se homogenizó mediante agitación manual. La

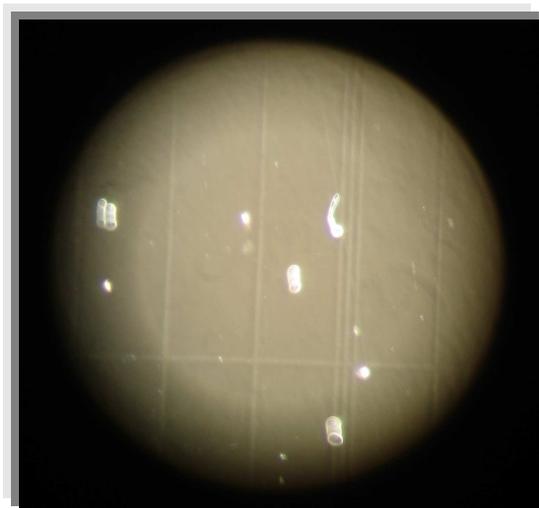
suspensión de *Candida albicans* fue ajustada a escala Mc Farland 0.5, para establecer la concentración de levaduras mediante la densidad óptica de la solución que correspondió a  $1 \times 10^6$ . (Figura N° 13)



**Figura N° 18.** Suspensión de *Candida Albicans* ajustando a escala Mc Farland 0.5

#### **6.2.2.2. Conteo de la levadura con la Cámara Petroff Hausser**

La cámara de Petroff Hausser, sirve para extrapolar el número de levaduras presente en una solución. Por ello, con la micropipeta se extrajo 3 uL de la solución (agua destilada y levadura) para depositar sobre la cámara Petroff Hausser, que consta de una base de vidrio con una celda cuadrículada y una placa cubre objetos, la solución ingresa por capilaridad y humedece la celda cuadrículada, de esta manera estaba listo para la apreciación y conteo por medio del microscopio de campo oscuro (Olimpus Bx 40) magnificación 40 X. (Figura N° 14)



**Figura N° 19.** Observación microscópica de levaduras *Candida albicans* en Cámara Petroff Hausser

De tal forma, el conteo se dio en cuadrantes Y, dentro del cual se contó 10 cuadrantes al azar, valores que sirvieron como base para obtener un valor promedio (Yp), finalmente a este último se lo multiplica  $\times 100 \times 50 \times 25$ , para obtener el valor total (Yt) de levaduras. Fórmula: Y (total): Y (promedio). $25 \times 100 \times 1000$ . Así fue posible determinar el número de bacterias que hay en una colonia, valor que se estableció como número base, a partir del cual, empezaba el test dentro de cada solución irrigante. Se debe tener presente que, el número de levaduras establecido, se realizó por separado para cada solución, lo que significa que el protocolo de conteo fue efectuado a seis colonias para seis soluciones en estudio. (Tabla N° 5)

<b>Solución</b>	<b>(Yp)Valor promedio</b>	<b>(Yt)Valor total</b>
Hipoclorito de sodio 2.5%	$4.24 \times 10^6$	$5.3 \times 10^6$
Hipoclorito de sodio 5,25%	$5.92 \times 10^6$	$7.4/10^6$
Clorhexidina 2%:	$3.52 \times 10^6$	$4.4/10^6$
EDTA% 17%	$4.16 \times 10^6$	$5.2/10^6$
Control negativo Suero fisiológico	$3.28 \times 10^6$	$4.1/ 10^6$
Control positivo Hipoclorito de sodio 6. 5%	$4.48 \times 10^6$	$5.6/10^6$

**Tabla N° 5.** Tabla de conteo de levaduras: (Yp) Valor promedio; (Yt) Valor total, para cada solución.

### 6.2.2.3. Preparación de los irrigantes

Se necesitó 3 tubos de ensayo para cada solución. Por tanto con una micropipeta se tomó 5ml de cada solución (Hipoclorito de sodio 2.5%, Hipoclorito de sodio 5.25%, Gluconato de Clorhexidina 2.0%, EDTA 17%, Suero fisiológico e Hipoclorito de sodio 6.5%) y se depositó en los respectivos tubos de ensayo estériles que se encuentran una gradilla. (Figura N° 15). Por cada solución a ser estudiada fue concerniente preparar de forma particularizada la levadura, su conteo y preparación de los irrigantes.



**Figura N° 20.** Soluciones irrigantes en tubos de ensayo

### 6.2.2.4. Test de eficacia antimicótica en uno, dos y tres minutos

Entonces, se realizó el test tomando en cuenta la equivalencia del número de células que hubo en una colonia para cada irrigante, valor que sirvió como referencia, para extrapolar en los resultados.

Se tomó con hisopo estéril una colonia y se depositó mediante movimientos circulares en 5ml de la respectiva solución que se encuentra en un tubo de ensayo, enseguida, se tomó el tiempo (un minuto) en un reloj. Pasado el tiempo establecido, se extrae con micropipeta 100 uL de la solución (irrigante y colonia de *Candida albicans*) para depositar en medio Muller-Hinton y realizar el estriamiento de forma uniforme con una asa de vidrio esterilizada en el mechero. De la misma manera se repite este protocolo para probar a los tres y cinco minutos. Las cajas Petri con los

test permanecieron al medio ambiente dentro del laboratorio durante 24 a 48 horas.  
(Figura N° 21, N° 22, N° 23a, N° 23b)



**Figura N° 21.** Un hisopo tomando una colonia de *Candida albicans*



**Figura N° 22.** Sumergiendo una colonia en el irrigante



**Figura N° 23a.** Tomando con la micropipeta 5ml de la solución irrigante con la levadura  
*Candida albicans*



**Figura N° 23b.** Estriando la solución depositada en al caja Petri

## 7.- RESULTADOS

### 7. 1. Recolección de Datos

#### 7. 1. 1. Fase 1: Evaluación de susceptibilidad de *Candida albicans* a soluciones irrigantes mediante halos de inhibición bacteriana

Subsecuentemente se efectuó la medición del halo de inhibición de crecimiento bacteriano con una regla milimétrica, el mismo que se logro observar solo en caso que el irrigante hizo efecto. Los datos obtenidos en la medición de lo halos se recolectaron a través de una tabla previamente elaborada, para posteriormente ser analizados estadísticamente. (Tabla N° 6)

#### **Halos de inhibición (en milímetros) ante las diferentes soluciones irrigantes**

<b>Solución Muestra</b>	<b>Clorhexidina 2%</b>	<b>Hipoclorito de sodio 2,5%</b>	<b>Hipoclorito de sodio 5,25%</b>	<b>EDTA 17%</b>	<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>Hipoclorito de sodio 6,5%</b>
1° Halo de Inhibición	3	0	1	6	0	1,5
2° Halo de Inhibición	3	0	1	6	0	1,5
3° Halo de Inhibición	3,5	0	0	6	0	1,5
4° Halo de Inhibición	5	1	1	6,5	0	1,5
5° Halo de Inhibición	4,5	1	1	6	0	1,5
6° Halo de Inhibición	4	0	1	7	0	1
7° Halo de Inhibición	4	0,5	0,5	7	0	1

8° Halo de Inhibición	3,5	0	1	6	0	1,5
9° Halo de Inhibición	3,5	1	1,5	5,5	0	1
10° Halo de Inhibición	4	1	1,5	6	0	1

**Tabla N° 6.** Mediciones de los halos de inhibición formados por cada solución irrigante empleada en el estudio.

**7. 1. 2. Fase 2: Evaluación de susceptibilidad de *Candida albicans* a soluciones irrigantes en tiempo. (Uno, tres y cinco minutos)**

En cámara de contadora de colonia (Leica), fue posible valorar los resultados de manera macroscópica, por tanto se efectuó el respectivo conteo. De igual manera que en la Fase 1, los datos obtenidos se recolectaron a través de un tabla previamente elaborada. (Tabla N° 7)

**Tabla N° 7. Eficacia de las soluciones irrigantes en uno tres y cinco minutos**

**Valores Recolectados de la Eliminación o Reducción de Colonias de *Candida* con Soluciones Irrigantes Durante 1 Minuto**

Soluciones Ensayos	Clorhexidina 2%	Hipoclorito de sodio 2.5%	Hipoclorito de sodio 5.25%	EDTA 17%	Control Negativo Suero fisiológico	Control Positivo Hipoclorito de sodio 6.5%
1° Ensayo (# Colonias)	0	16800	930	0	2400000	0
2° Ensayo (# Colonias)	0	15240	1230	0	3200000	0
3° Ensayo (# Colonias)	0	16140	2060	0	5200000	0
4° Ensayo (# Colonias)	0	18060	980	0	4400000	0
5° Ensayo (# Colonias)	0	16830	1180	0	4300000	0

**Valores Recolectados de la Eliminación o Reducción de Colonias de *Candida* con Soluciones Irrigantes Durante 3 Minutos**

Soluciones Ensayos	Clorhexidina 2%	Hipoclorito de sodio 2.5%	Hipoclorito de sodio 5.25%	EDTA 17%	Control Negativo Suero fisiológico	Control Positivo Hipoclorito de sodio 6.5%
1° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	2100000	0
2° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	4400000	0
3° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	3400000	0

4° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	2700000	0
5° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	5200000	0

**Valores Recolectados de la Eliminación o Reducción de Colonias de Candida con Soluciones Irrigantes Durante 5 Minutos**

<b>Soluciones</b> <b>Ensayos</b>	<b>Clorhexidina 2%</b>	<b>Hipoclorito de sodio 2.5%</b>	<b>Hipoclorito de sodio 5.25%</b>	<b>EDTA 17%</b>	<b>Control Negativo Suero fisiológico</b>	<b>Control Positivo Hipoclorito de sodio 6.5%</b>
1° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	2300000	0
2° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	2700000	0
3° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	4500000	0
4° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	3100000	0
5° Ensayo (# Colonias)	0	0	0	0	5100000	0

## 7.2. Análisis estadísticos

A continuación se presenta el estudio estadístico, realizado para confirmar la hipótesis planteada en este estudio. Para lo cual, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), con el objeto de establecer el comportamiento de las diferentes soluciones irrigantes en cada una de las experimentaciones realizadas. Cabe mencionar que, en este análisis se utilizaron métodos de comparación múltiple, como la prueba de Scheffé y la prueba de Duncan, para un análisis más efectivo y seguro.

### 7.2.1. Fase 1: Evaluación de susceptibilidad de *Candida albicans* a soluciones irrigantes mediante halos de inhibición bacteriana

#### 7.2.1.1 Estadísticos descriptivos

El resumen estadístico de cada una de las variables (soluciones irrigantes), determinó que, las soluciones de mayor media son el EDTA 17% con una media de 6,2, seguido la Clorhexidina 2% con una media de 3,8, concluyendo que son éstas, las que presentan un mayor efecto sobre *Candida albicans* en comparación con las demás variables (valores máximo y mínimo). (Tabla N° 8)

Soluciones	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Clorhexidina 2%</b>	<b>10</b>	<b>3,8</b>	<b>0,6325</b>	<b>0,2</b>	<b>3,348</b>	<b>4,252</b>	<b>3</b>	<b>5</b>
Hipoclorito de sodio 2,5%	10	0,45	0,4972	0,1572	0,094	0,806	0	1
Hipoclorito de sodio 5,25%	10	0,95	0,4378	0,1384	0,637	1,263	0	1,5
<b>EDTA 17%</b>	<b>10</b>	<b>6,2</b>	<b>0,483</b>	<b>0,1528</b>	<b>5,854</b>	<b>6,546</b>	<b>5,5</b>	<b>7</b>
Control negativo Suero fisiológico	10	0	0	0	0	0	0	0
Control positivo Hipoclorito de sodio 6,5%	10	1,3	0,2582	0,0816	1,115	1,485	1	1,5
Total	60	2,117	2,2481	,2902	1,536	2,697	0	7

**Tabla N° 8:** Estadísticos Descriptivos

### 7.2.1.2. Análisis de ANOVA

Posteriormente se ve la probabilidad crítica asociada al estadístico F (Significancia=0), que es menor que 0,05 (5%), por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) de igualdad de medias de las variables, lo que permite aceptar la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) de que por lo menos una de las medias difiere de las demás. Como se puede apreciar en la tabla (Tabla N° 9)

	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	287,933	5	57,587	303,383	0
Intra-grupos	10,25	54	0,19		
Total	298,183	59			

**Tabla N° 9.** Tabla ANOVA

### 7.2.1.3 Prueba de Scheffé

Se hicieron múltiples comparaciones entre la soluciones irrigantes empleadas mediante la prueba de Scheffé, por lo que se puede observar el comportamiento de cada solución irrigante al ser comparada con el resto de soluciones, a lo cual se denomina comparaciones múltiples, la misma que se presenta en la cuarta columna de esta tabla (Diferencia de medias (I-J)). Si la diferencia de medias esta con un asterisco

(\*) a su lado derecho, significa que, la diferencia es significativamente distinta de cero al nivel 0,05 (5%), es decir que, las medias en los grupos correspondientes son significativamente distintas. En consecuencia, las soluciones irrigantes tienen diferentes efectos sobre *Candida albicans*. De acuerdo a ello; la Clorhexidina al 2% tiene un comportamiento diferente al resto de soluciones; el Hipoclorito de sodio al 2,5% presenta un comportamiento relativamente similar al del Hipoclorito de sodio al 5,25% y al Suero fisiológico (Control negativo); el Hipoclorito de sodio al 5,25% muestra un comportamiento heterogéneo comparado con la Clorhexidina al 2%, el EDTA al 17% y Suero fisiológico (Control negativo); El comportamiento de EDTA 17% difiere del resto de comportamientos de las soluciones irrigantes; el Suero fisiológico (Control negativo) presenta un comportamiento similar que el hipoclorito de sodio al 2,5%; el Hipoclorito de sodio 6,5% (Control positivo) muestra un comportamiento parecido al hipoclorito de sodio 5,25%.(Tabla N° 10)

Prueba	(I) Soluciones	(J) Soluciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
Scheffé	Clorhexidina 2%	Hipoclorito de sodio 2,5%	3,35(*)	0,1948	0	2,677	4,023
		Hipoclorito de sodio 5,25%	2,85(*)	0,1948	0	2,177	3,523
		EDTA 17%	-2,4(*)	0,1948	0	-3,073	-1,727
		Control negativo Suero fisiológico	3,8(*)	0,1948	0	3,127	4,473
		Hipoclorito de sodio 6,5%	2,5(*)	0,1948	0	1,827	3,173
	Hipoclorito de sodio 2,5%	Clorhexidina 2%	-3,35(*)	0,1948	0	-4,023	-2,677
		<b>Hipoclorito de sodio 5,25%</b>	<b>-0,5</b>	<b>0,1948</b>	<b>0,271</b>	<b>-1,173</b>	<b>0,173</b>
		EDTA 17%	-5,75(*)	0,1948	0	-6,423	-5,077
		<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>0,45</b>	<b>0,1948</b>	<b>0,389</b>	<b>-0,223</b>	<b>1,123</b>
		Hipoclorito de sodio 6,5%	-,85(*)	0,1948	0,005	-1,523	-0,177
	Hipoclorito de sodio 5,25%	Clorhexidina 2%	-2,85(*)	0,1948	0	-3,523	-2,177
		<b>Hipoclorito de sodio 2,5%</b>	<b>0,5</b>	<b>0,1948</b>	<b>0,271</b>	<b>-0,173</b>	<b>1,173</b>
		EDTA 17%	-5,25(*)	0,1948	0	-5,923	-4,577
		Control negativo Suero fisiológico	0,95(*)	0,1948	0,001	0,277	1,623
		<b>Hipoclorito de sodio 6,5%</b>	<b>-0,35</b>	<b>0,1948</b>	<b>0,666</b>	<b>-1,023</b>	<b>0,323</b>
	EDTA 17%	Clorhexidina 2%	2,4(*)	0,1948	0	1,727	3,073
		Hipoclorito de sodio 2,5%	5,75(*)	0,1948	0	5,077	6,423
		Hipoclorito de sodio 5,25%	5,25(*)	0,1948	0	4,577	5,923

	Control negativo Suero fisiológico	6,2(*)	0,1948	0	5,527	6,873
	Hipoclorito de sodio 6,5%	4,9(*)	0,1948	0	4,227	5,573
Control negativo Suero fisiológico	Clorhexidina 2%	-3,8(*)	0,1948	0	-4,473	-3,127
	<b>Hipoclorito de sodio 2,5%</b>	<b>-0,45</b>	<b>0,1948</b>	<b>0,389</b>	<b>-1,123</b>	<b>0,223</b>
	Hipoclorito de sodio 5,25%	-0,95(*)	0,1948	0,001	-1,623	-0,277
	EDTA 17%	-6,2(*)	0,1948	0	-6,873	-5,527
	Hipoclorito de sodio 6,5%	-1,3(*)	0,1948	0	-1,973	-0,627
Hipoclorito de sodio 6,5%	Clorhexidina 2%	-2,5(*)	0,1948	0	-3,173	-1,827
	Hipoclorito de sodio 2,5%	0,85(*)	0,1948	0,005	0,177	1,523
	<b>Hipoclorito de sodio 5,25%</b>	<b>0,35</b>	<b>0,1948</b>	<b>0,666</b>	<b>-0,323</b>	<b>1,023</b>
	EDTA 17%	-4,9(*)	0,1948	0	-5,573	-4,227
	Control negativo Suero fisiológico	1,3(*)	0,1948	0	0,627	1,973

**Tabla N° 10: Prueba de Scheffé**

#### 7.2.1.4. Prueba de Duncan

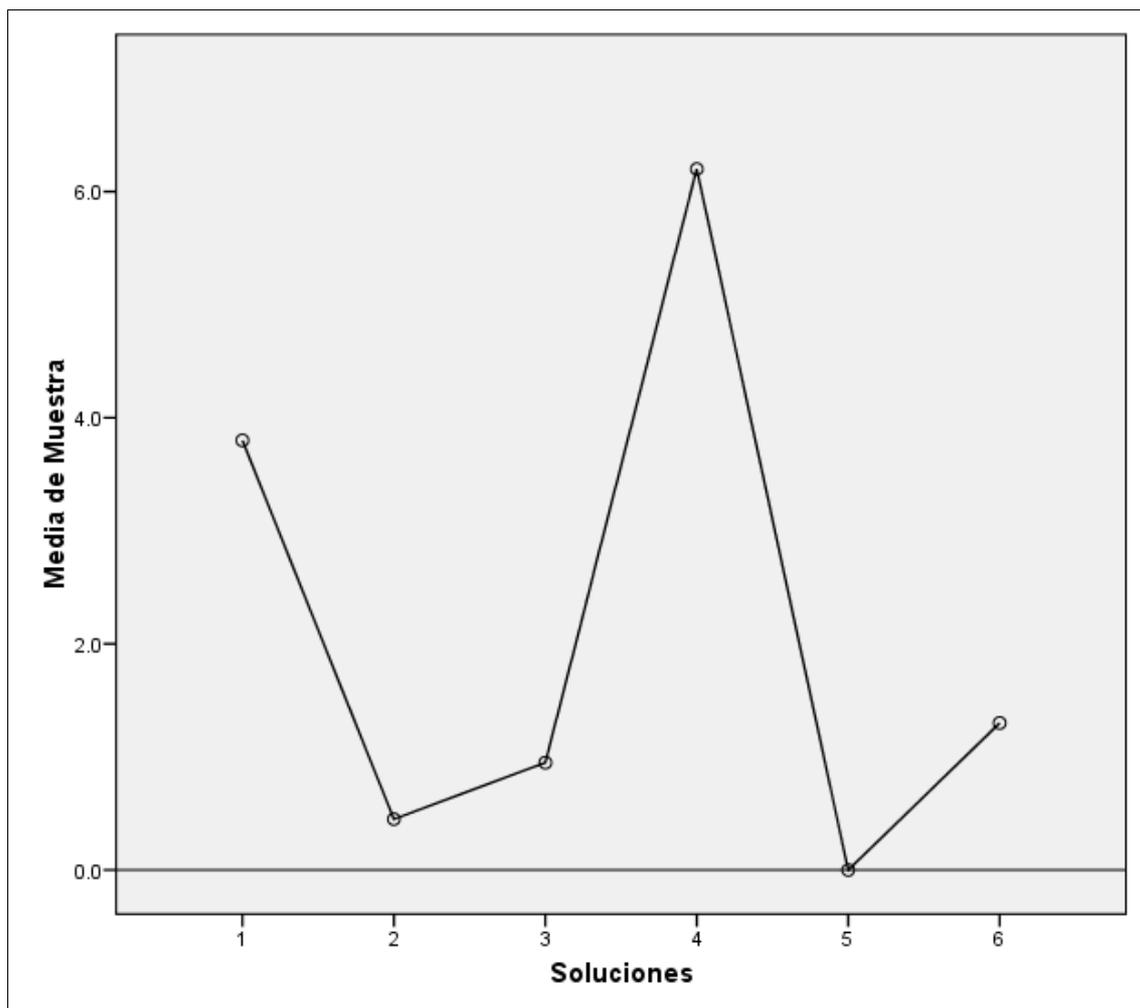
Los resultados analizados en la prueba de Duncan demuestran la existencia de medias diferentes, corroborando de esta manera la prueba de Scheffé y el ANOVA. Cabe señalar que, el hipoclorito al 5,25% y al 6,5% presentan medias similares, razón por la cual se las ubica en un mismo subconjunto y tiene una significancia menor al resto, debido a que esta prueba utiliza niveles de significancia variables que dependen del número de medias que se ubican en los diferentes subconjuntos. Además, se observa que el Suero fisiológico no causa ningún efecto sobre el sujeto experimental, mientras que, el EDTA 17% es la solución irrigante con mayor efectividad. (Tabla N° 11)

Prueba	Soluciones	N	Subconjunto para $\alpha = 0,05$				
			1	2	3	4	5
Duncan(a)	Control negativo Suero fisiológico	10	0				
	Hipoclorito de sodio 2,5%	10		0,45			
	Hipoclorito de sodio 5,25%	10			0,95		
	Hipoclorito de sodio 6,5%	10			1,3		
	Clorhexidina 2%	10				3,8	
	<b>EDTA 17%</b>	<b>10</b>					<b>6,2</b>
	Sig.			1	1	0,078	1
Scheffé(a)	Control negativo Suero fisiológico	10	0				

Hipoclorito de sodio 2,5%	10	0,45	0,45			
Hipoclorito de sodio 5,25%	10		0,95	0,95		
Hipoclorito de sodio 6,5%	10			1,3		
Clorhexidina 2%	10				3,8	
<b>EDTA 17%</b>	<b>10</b>					<b>6,2</b>
Sig.		0,389	0,271	0,666	1	1

**Tabla N° 11:** Prueba de Duncan

Se asocia a continuación el comportamiento de las medias de las diferentes soluciones irrigantes, donde, EDTA 17% y Clorhexidina 2% son las soluciones más efectivas para combatir *Candida albicans*, debido a que presentan las mayores medias; por otro lado, las soluciones de menor efectividad son: Suero fisiológico e hipoclorito 2,5%, por presentar las medias más bajas. (Gráfico N° 1)



**Gráfico N° 1.** Gráfico de las Medias de las Soluciones Irrigantes

1. Clorhexidina 2%
2. Hipoclorito de sodio 2,5%
3. Hipoclorito de sodio 5,25%
4. EDTA 17%
5. Suero fisiológico
6. Hipoclorito de sodio 6,5%

## 7.2.2. Fase 2: Evaluación de susceptibilidad de *Candida albicans* a soluciones irrigantes en tiempo. (Uno, tres y cinco minutos)

### 7.2.2.1 Estadísticos Descriptivos

Los estadísticos descriptivos de cada una de las soluciones irrigantes en los diferentes tiempos de experimentación demuestran que al minuto las soluciones más efectivas son EDTA 17% y Clorhexidina 2% ya que eliminan por completo a la levadura (medias 0). Por otro lado, a los tres y cinco minutos de experimentación, todas las soluciones, a excepción del Suero fisiológico, son efectivas para mitigar *Candida albicans* (medias 0). Cabe señalar que el Suero fisiológico produce variaciones insignificantes en el número de colonias a medida que el tiempo de experimentación incrementa. (Tabla N° 12)

Ensayos	Soluciones	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
# Colonias en 1 Minuto	<b>Clorhexidina 2%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	Hipoclorito de sodio 2,5%	5	16614	1034,978	462,856	15328,9	17899,1	15240	18060
	Hipoclorito de sodio 5,25%	5	1276	456,432	204,123	709,27	1842,73	930	2060
	<b>EDTA 17%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	Control negativo Suero fisiológico	5	3900000	1100000	491934,955	2534169,6	5265830,4	2400000	5200000
	<b>Hipoclorito de sodio 6,5%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	Total	30	652981,67	1532406,735	279777,912	80771,59	1225191,75	0	5200000
# Colonias en 3 Minutos	<b>Clorhexidina 2%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	<b>Hipoclorito de sodio 2,5%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	<b>Hipoclorito de sodio 5,25%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	<b>EDTA 17%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	Control negativo Suero fisiológico	5	3560000	1254192,968	560892,146	2002713,75	5117286,25	2100000	5200000
	<b>Hipoclorito de sodio 6,5%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	Total	30	593333,33	1427545,116	260632,887	60279,23	1126387,44	0	5200000
# Colonias en 5 Minutos	<b>Clorhexidina 2%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0
	<b>Hipoclorito de sodio 2,5%</b>	5	0	0	0	0	0	0	0

Hipoclorito de sodio 5,25%	5	0	0	0	0	0	0	0
EDTA 17%	5	0	0	0	0	0	0	0
Control negativo Suero fisiológico	5	3540000	1203328,717	538144,962	2045870,05	5034129,95	2300000	5100000
Hipoclorito de sodio 6,5%	5	0	0	0	0	0	0	0
Total	30	590000	1414298,9	258214,47	61892,11	1118107,89	0	5100000

**Tabla N° 12.** Estadísticos Descriptivos

### 7.2.2.2. Análisis de ANOVA

La significancia del estadístico F, en los tres tiempos de experimentación, es igual a cero, por lo que, se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) de igualdad de medias al 5% de confianza; es decir, se acepta la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) de que por lo menos una media difiere de las demás, en los tres casos. (Tabla N° 13)

Ensayos		Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Media cuadrática	F	Sig.
# Colonias en 1 Minuto	Inter-grupos	$6,33 \times 10^{13}$	5	$1,27 \times 10^{12}$	62,737	0
	Intra-grupos	$4,84 \times 10^{12}$	24	$2,02 \times 10^{10}$		
	Total	$6,81 \times 10^{13}$	29			
# Colonias en 3 Minutos	Inter-grupos	$5,28 \times 10^{13}$	5	$1,06 \times 10^{12}$	40,285	0
	Intra-grupos	$6,29 \times 10^{12}$	24	$2,62 \times 10^{10}$		
	Total	$5,91 \times 10^{13}$	29			
# Colonias en 5 Minutos	Inter-grupos	$5,22 \times 10^{13}$	5	$1,04 \times 10^{12}$	43,272	0
	Intra-grupos	$5,79 \times 10^{12}$	24	$2,41 \times 10^{10}$		
	Total	$5,8 \times 10^{14}$	29			

**Tabla N° 13.** ANOVA

### 7.2.2.3. Pruebas de Sheffé

En prueba de Sheffé las soluciones irrigantes, al minuto de experimentación presentan medias similares entre sí, a excepción del Suero Fisiológico que exhibe medias diferentes en comparación con el resto de irrigantes. Este mismo comportamiento se aprecia en los otros dos tiempos de experimentación (3 y 5 minutos). Cabe mencionar que, las únicas soluciones que eliminan por completo la

levadura en un minuto son: EDTA 17%, Clorhexidina 2% e Hipoclorito de sodio 6,5%, mientras que Hipoclorito 2,5% e Hipoclorito de sodio 5,25% lo hacen a partir de los tres minutos, es decir que, a medida que aumenta el tiempo, las soluciones irrigantes se vuelven más efectivas. Además, el análisis muestra que, el Suero fisiológico en los tres tiempos de experimentación, produce una reducción insignificante de colonias de *Candida albicans*.

(Tabla N° 14).

**Tabla N°14. Pruebas de Sheffé en los Diferentes Tiempos (1 minuto)**

Ensayos	Prueba	(I) Soluciones	(J) Soluciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
							Límite superior	Límite inferior
# Colonias en 1 Minuto	Scheffé	Clorhexidina 2%	Hipoclorito de sodio 2,5%	-16614	284018,9289	0,999999958	-1044718,222	1011490,222
			Hipoclorito de sodio 5,25%	-1276	284018,9289	1	-1029380,222	1026828,222
			EDTA 17%	0	284018,9289	1	-1028104,222	1028104,222
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3900000</b>	<b>284018,9289</b>	<b>1,32044E-10</b>	<b>-4928104,222</b>	<b>-2871895,778</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	284018,9289	1	-1028104,222	1028104,222
		Hipoclorito de sodio 2,5%	Clorhexidina 2%	16614	284018,9289	0,999999958	-1011490,222	1044718,222
			Hipoclorito de sodio 5,25%	15338	284018,9289	0,999999972	-1012766,222	1043442,222
			EDTA 17%	16614	284018,9289	0,999999958	-1011490,222	1044718,222
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3883386</b>	<b>284018,9289</b>	<b>1,4441E-10</b>	<b>-4911490,222</b>	<b>-2855281,778</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	16614	284018,9289	0,999999958	-1011490,222	1044718,222
		Hipoclorito de sodio 5,25%	Clorhexidina 2%	1276	284018,9289	1	-1026828,222	1029380,222
			Hipoclorito de sodio 2,5%	-15338	284018,9289	0,999999972	-1043442,222	1012766,222
			EDTA 17%	1276	284018,9289	1	-1026828,222	1029380,222
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3898724</b>	<b>284018,9289</b>	<b>1,32954E-10</b>	<b>-4926828,222</b>	<b>-2870619,778</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	1276	284018,9289	1	-1026828,222	1029380,222
		EDTA 17%	Clorhexidina 2%	0	284018,9289	1	-1028104,222	1028104,222
			Hipoclorito de sodio 2,5%	-16614	284018,9289	0,999999958	-1044718,222	1011490,222
			Hipoclorito de sodio 5,25%	-1276	284018,9289	1	-1029380,222	1026828,222
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3900000</b>	<b>284018,9289</b>	<b>1,32044E-10</b>	<b>-4928104,222</b>	<b>-2871895,778</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	284018,9289	1	-1028104,222	1028104,222
		Control negativo Suero fisiológico	Clorhexidina 2%	3900000	284018,9289	1,32044E-10	2871895,778	4928104,222
			Hipoclorito de sodio 2,5%	3883386	284018,9289	1,4441E-10	2855281,778	4911490,222
			Hipoclorito de sodio 5,25%	3898724	284018,9289	1,32954E-10	2870619,778	4926828,222
			EDTA 17%	3900000	284018,9289	1,32044E-10	2871895,778	4928104,222
			Hipoclorito de sodio 6,5%	3900000	284018,9289	1,32044E-10	2871895,778	4928104,222
		Hipoclorito de sodio 6,5%	Clorhexidina 2%	0	284018,9289	1	-1028104,222	1028104,222
			Hipoclorito de sodio 2,5%	-16614	284018,9289	0,999999958	-1044718,222	1011490,222
			Hipoclorito de sodio 5,25%	-1276	284018,9289	1	-1029380,222	1026828,222
			EDTA 17%	0	284018,9289	1	-1028104,222	1028104,222
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3900000</b>	<b>284018,9289</b>	<b>1,32044E-10</b>	<b>-4928104,222</b>	<b>-2871895,778</b>

**Tabla N°14. Pruebas de Sheffé en los Diferentes Tiempos (3 minutos)**

Ensayos	Prueba	(I) Soluciones	(J) Soluciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
							Límite superior	Límite inferior
# Colonias en 3 Minutos	Scheffé	Clorhexidina 2%	Hipoclorito de sodio 2,5%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			Hipoclorito de sodio 5,25%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			EDTA 17%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3560000</b>	<b>323831,2318</b>	<b>1,20991E-08</b>	<b>-4732218,548</b>	<b>-2387781,452</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
		Hipoclorito de sodio 2,5%	Clorhexidina 2%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			Hipoclorito de sodio 5,25%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			EDTA 17%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3560000</b>	<b>323831,2318</b>	<b>1,20991E-08</b>	<b>-4732218,548</b>	<b>-2387781,452</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
		Hipoclorito de sodio 5,25%	Clorhexidina 2%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			Hipoclorito de sodio 2,5%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			EDTA 17%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3560000</b>	<b>323831,2318</b>	<b>1,20991E-08</b>	<b>-4732218,548</b>	<b>-2387781,452</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
		EDTA 17%	Clorhexidina 2%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			Hipoclorito de sodio 2,5%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			Hipoclorito de sodio 5,25%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3560000</b>	<b>323831,2318</b>	<b>1,20991E-08</b>	<b>-4732218,548</b>	<b>-2387781,452</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
		Control negativo Suero fisiológico	Clorhexidina 2%	3560000	323831,2318	1,20991E-08	2387781,452	4732218,548
			Hipoclorito de sodio 2,5%	3560000	323831,2318	1,20991E-08	2387781,452	4732218,548
			Hipoclorito de sodio 5,25%	3560000	323831,2318	1,20991E-08	2387781,452	4732218,548
			EDTA 17%	3560000	323831,2318	1,20991E-08	2387781,452	4732218,548
			Hipoclorito de sodio 6,5%	3560000	323831,2318	1,20991E-08	2387781,452	4732218,548
		Hipoclorito de sodio 6,5%	Clorhexidina 2%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			Hipoclorito de sodio 2,5%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			Hipoclorito de sodio 5,25%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			EDTA 17%	0	323831,2318	1	-1172218,548	1172218,548
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3560000</b>	<b>323831,2318</b>	<b>1,20991E-08</b>	<b>-4732218,548</b>	<b>-2387781,452</b>

**Tabla N°14.** Pruebas de Sheffé en los Diferentes Tiempos (5 minutos)

Ensayos	Prueba	(I) Soluciones	(J) Soluciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
							Límite superior	Límite inferior
# Colonias en 5 Minutos	Scheffé	Clorhexidina 2%	Hipoclorito de sodio 2,5%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			Hipoclorito de sodio 5,25%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			EDTA 17%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>-4664678,799</b>	<b>-2415321,201</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
		Hipoclorito de sodio 2,5%	Clorhexidina 2%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			Hipoclorito de sodio 5,25%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			EDTA 17%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>-4664678,799</b>	<b>-2415321,201</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
		Hipoclorito de sodio 5,25%	Clorhexidina 2%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			Hipoclorito de sodio 2,5%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			EDTA 17%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>-4664678,799</b>	<b>-2415321,201</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
		EDTA 17%	Clorhexidina 2%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			Hipoclorito de sodio 2,5%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			Hipoclorito de sodio 5,25%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>-4664678,799</b>	<b>-2415321,201</b>
			Hipoclorito de sodio 6,5%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
		Control negativo Suero fisiológico	<b>Clorhexidina 2%</b>	<b>3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>2415321,201</b>	<b>4664678,799</b>
			<b>Hipoclorito de sodio 2,5%</b>	<b>3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>2415321,201</b>	<b>4664678,799</b>
			<b>Hipoclorito de sodio 5,25%</b>	<b>3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>2415321,201</b>	<b>4664678,799</b>
			<b>EDTA 17%</b>	<b>3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>2415321,201</b>	<b>4664678,799</b>
			<b>Hipoclorito de sodio 6,5%</b>	<b>3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>2415321,201</b>	<b>4664678,799</b>
		Hipoclorito de sodio 6,5%	Clorhexidina 2%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			Hipoclorito de sodio 2,5%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			Hipoclorito de sodio 5,25%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			EDTA 17%	0	310698,1386	1	-1124678,799	1124678,799
			<b>Control negativo Suero fisiológico</b>	<b>-3540000</b>	<b>310698,1386</b>	<b>5,98023E-09</b>	<b>-4664678,799</b>	<b>-2415321,201</b>

#### 7.2.2.4. Prueba de Duncan

Al realizar la prueba de Duncan se confirma lo expuesto anteriormente, ya que al efectuar la experimentación al minuto se aprecia que las tres soluciones más eficientes son: clorhexidina al 2%, EDTA al 17% e hipoclorito de sodio al 6,5%, debido a que estas presentan igual media (0) y se encuentran ubicadas en el primer subconjunto con una significancia de 0,959; cabe señalar que el hipoclorito de sodio al 2,5% y 5,25%, también se encuentran ubicadas en el primer subconjunto, al igual que las soluciones anteriores, con la diferencia de que estos dos irrigantes tienen medias distintas de cero, es decir, no eliminan por completo la levadura al minuto de experimentación. Por otro lado, a los tres y a los cinco minutos de experimentación, todas las soluciones, a excepción del Suero fisiológico, son efectivas para combatir *Candida albicans*, es por ello que: Clorhexidina 2%, hipoclorito de sodio 2,5%, hipoclorito de sodio 5,25%, EDTA 17% e hipoclorito de sodio 6,5%, se encuentran ubicadas en el primer subconjunto de la prueba con una media de cero y con una significancia de 0,959 y de 1 para los tiempos de tres y cinco minutos respectivamente. (Tabla N° 15)

Número de colonias en un minuto

Pruebas	Soluciones	N	Subconjunto para $\alpha = .05$	
			1	2
Duncan(a)	Clorhexidina 2%	5	0	
	EDTA 17%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 6,5%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 5,25%	5	1276	
	Hipoclorito de sodio 2,5%	5	16614	
	Control negativo Suero fisiológico	5		3900000
	Sig.		0,959	1
	Scheffé(a)	Clorhexidina 2%	5	0
EDTA 17%		5	0	
Hipoclorito de sodio 6,5%		5	0	
Hipoclorito de sodio 5,25%		5	1276	
Hipoclorito de sodio 2,5%		5	16614	
Control negativo Suero fisiológico		5		3900000
Sig.			1	1

Número de colonias en tres minutos

Pruebas	Soluciones	N	Subconjunto para $\alpha = .05$	
			1	2
Duncan(a)	Clorhexidina 2%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 2,5%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 5,25%	5	0	
	EDTA 17%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 6,5%	5	0	
	Control negativo Suero fisiológico	5		3560000
	Sig.		0,959	1
Scheffé(a)	Clorhexidina 2%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 2,5%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 5,25%	5	0	
	EDTA 17%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 6,5%	5	0	
	Control negativo Suero fisiológico	5		3560000
	Sig.		1	1

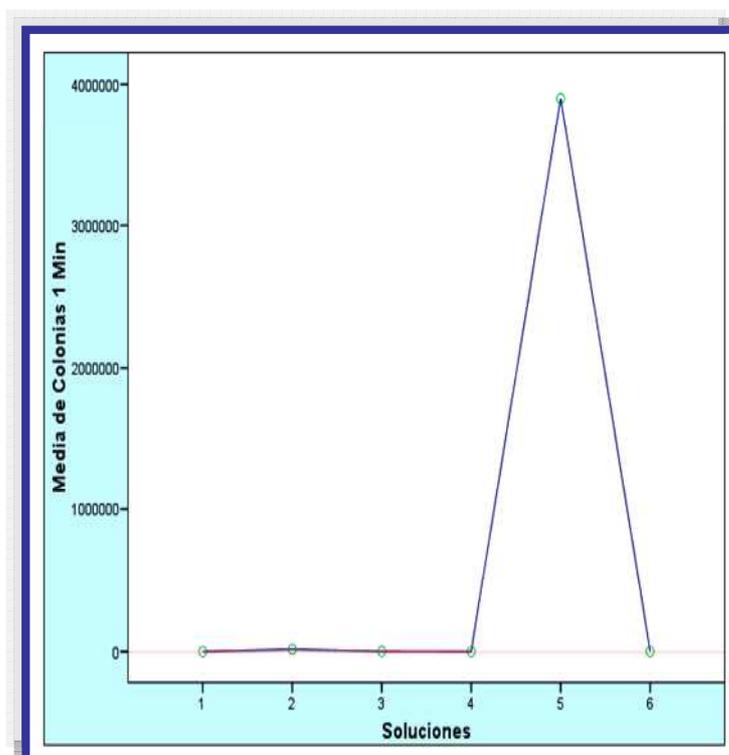
Número de colonias en 5 Minutos

Pruebas	Soluciones	N	Subconjunto para $\alpha = .05$	
			1	2
Duncan(a)	Clorhexidina 2%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 2,5%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 5,25%	5	0	
	EDTA 17%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 6,5%	5	0	
	Control negativo Suero fisiológico	5		3540000
	Sig.		0,959	1
Scheffé(a)	Clorhexidina 2%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 2,5%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 5,25%	5	0	
	EDTA 17%	5	0	
	Hipoclorito de sodio 6,5%	5	0	
	Control negativo Suero fisiológico	5		3540000
	Sig.		1	1

Tabla N° 15: Pruebas de Duncan en los Diferentes Tiempos

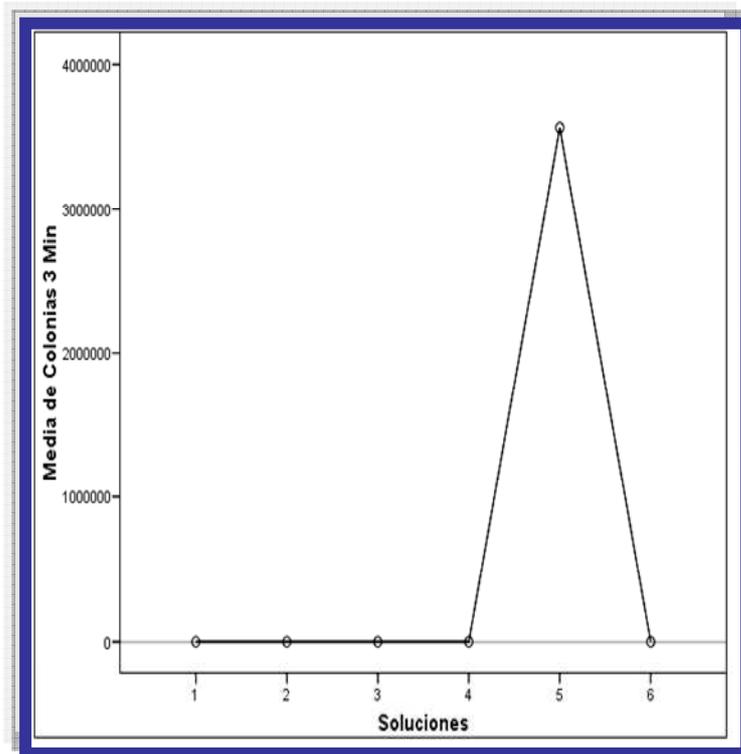
Se representa gráficamente las medias al un minuto de: Clorhexidina 2%, EDTA 17% e Hipoclorito de sodio 6,5%, tienen un valor de cero, sin embargo el Hipoclorito de sodio 2,5% y el Hipoclorito de sodio 5,25% tienen medias muy bajas que tienden a cero, razón por la cual en el gráfico pareciera que sus medias están sobre el eje de las X (0).

En los gráficos de tres y cinco minutos, se observa que todas las soluciones irrigantes, a excepción del Suero fisiológico, son efectivas para combatir *Candida albicans*. (Gráfico N° 2a, 2b, 2c)



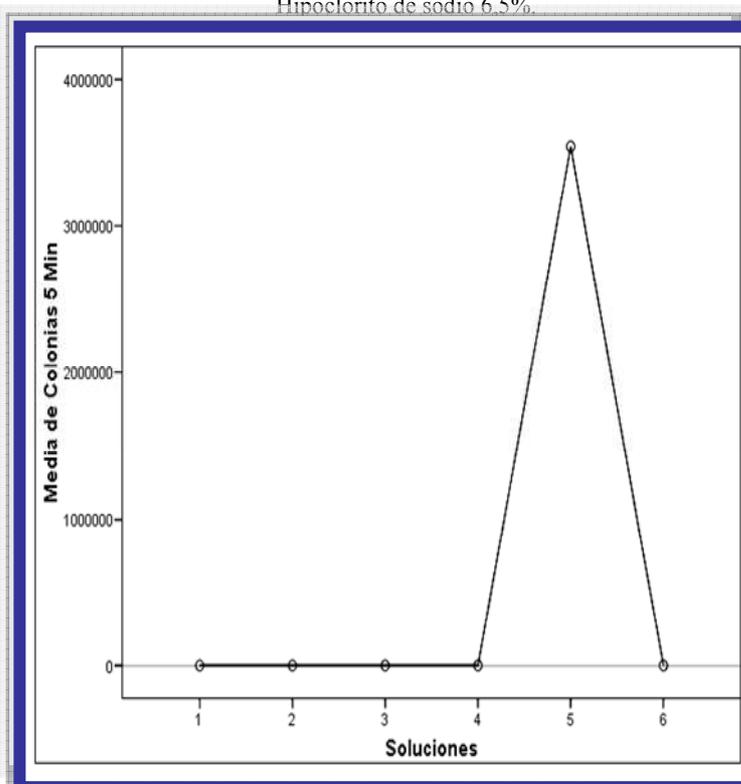
**Gráfico N° 2a. Medias de las soluciones en un minuto**

1. Clorhexidina 2%
2. Hipoclorito de sodio 2,5%
3. Hipoclorito de sodio 5,25%
4. EDTA 17%
5. Suero fisiológico
- Hipoclorito de sodio 6,5%



**Gráfico N° 2b. Medias de las soluciones en tres minutos**

1. Clorhexidina 2% 2. Hipoclorito de sodio 2,5% 3. Hipoclorito de sodio 5,25% 4. EDTA 17% 5. Suero fisiológico  
Hipoclorito de sodio 6,5%.



**Gráfico N° 2c. Medias de las soluciones en cinco minutos**

1. Clorhexidina 2% 2. Hipoclorito de sodio 2,5% 3. Hipoclorito de sodio 5,25% 4. EDTA 17% 5. Suero fisiológico  
Hipoclorito de sodio 6,5%

## 8. DISCUSIÓN

El presente estudio muestra como resultados, que el EDTA al 17%, fue la sustancia con mayor efecto antimicótico contra *Candida albicans*, no obstante la clorhexidina al 2% también mostró un considerable índice de efectividad. A su vez, las soluciones de hipoclorito de sodio no mostraron ser tan efectivas, sin embargo, se puede demostrar en este estudio que la concentración de hipoclorito de sodio si es un factor relevante en cuanto a su acción ya que a mayor concentración tuvo mayor efectividad.

No obstante, es importante entender que, las condiciones de un estudio in vitro, no se asemejan a las condiciones in vivo, ya que la anatomía radicular, el barrillo dentinario, biofilm, sinergismo entre bacterias, y saliva, proporcionan un ambiente viable para la supervivencia de la levadura, por lo tanto, al carecer de mecanismos de defensa en un estudio in vitro, la *Candida* es más susceptible o vulnerable al efecto de los irrigantes. (2)

Los resultados de varios estudios previos como, White. (1997) y Jeansonne (1994), entre otros corroboran que, la solución irrigante de clorhexidina al 2.0% es un potente y efectivo antimicrobiano usado en endodoncia. En adición a lo anterior, Estrella y cols. (2003), en un estudio in vitro evaluaron la eficacia bacteriana de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 2%, ante diferentes microorganismos entre los cuales se encontraba *Candida albicans*. Los resultados mediante halos de inhibición demostraron que ambas soluciones fueron efectivas. El presente estudio corrobora la eficacia de la Clorhexidina al 2% ya que se comportó efectiva sobre *Candida albicans*, mientras que las soluciones de hipoclorito de sodio incluso a concentraciones más elevadas como al 2.5% y 5.25% no tuvieron el mismo efecto, contrario a los resultados obtenidos en el estudio Estrella. (13) Otros Estudios como los realizados por Delany y cols. (1982), donde compararon in Vitro los efectos antimicrobianos de soluciones irrigantes como: clorhexidina al 2% y Suero fisiológico sobre la flora radicular persistente, ellos mostraron que, la Clorhexidina 2%, fue capaz de eliminar a toda la microflora presente incluida levaduras, mientras que, la solución salina no presentó ningún efecto.

En esta investigación, se mostró que, la clorhexidina al 2%, es realmente eficaz en contra de la levadura *Candida albicans*. Además de esto el suero fisiológico como control negativo tuvo un comportamiento ligeramente distinto que en el estudio de Delany, ya que actuó, eliminando levaduras pero de forma muy leve con el paso del tiempo, lo que podría ser explicado debido al calentamiento que sufre la sustancia por el mechero a gas encendido durante el test. Este calentamiento permite que, el cloruro de sodio (0.9%) que contiene la sustancia al estar calentado tenga leves propiedades bactericidas. (2)

Según otros estudios como el Vianna, Siqueira (1997), donde se evaluó in vitro la actividad antimicrobiana de clorhexidina e hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones sobre diversos microorganismos entre los cuales se encontraba *Candida albicans*, demostraron que, la Clorhexidina al 2% en gel y líquida es capaz de eliminar a *Candida albicans* en 15 segundos. Los resultados de la presente investigación estudio no difieren significativamente a lo encontrado en el estudio mencionado, ya que la Clorhexidina 2% y EDTA 17% al primer minuto eliminaron a la levadura completamente, mientras que las soluciones de hipoclorito de sodio no redujeron completamente las colonias de *Candida albicans* en el mismo tiempo. (30,13)

Waltino (1999), en su estudio in Vitro observó que, el Gluconato de clorhexidina al 0.5%, elimina de forma completa a *Candida albicans*, en un tiempo de 5 minutos, mientras tanto en el estudio actual de susceptibilidad de Candida, la clorhexidina al 2% muestra atenuar de forma completa a este microorganismo en tan solo un minuto, al igual que el EDTA al 17%. Como se puede apreciar las soluciones de clorhexidina empleadas en los dos estudios son diferentes, lo que explica el comportamiento de cada irrigante, a mayor concentración mayor efectividad en menor tiempo. (1)

Siqueira y cols. (1997), Nikolaus y cols. (1988) y Cengiz en 1997, recomiendan el uso del hipoclorito de sodio como una solución irrigante eficaz en el tratamiento del sistema de conductos radiculares infectados, debido a su acción bactericida muy reconocida. (1, 2, ,3).

A su vez, Ayhan y cols. (1999), en su estudio experimental de eficacia antimicrobiana de varios irrigantes endodóncicos como, hipoclorito de sodio en sus distintas concentraciones (0.5%, 5.25%), Gluconato de clorhexidina al 2%, alcohol al 21% y cresofeno sobre *C. albicans*, *E. faecalis*, *S. salivarius*, y *S. pyogenes* *E. coli*, demostró mediante halos de inhibición bacteriana que, el hipoclorito de sodio al 5.25% se comportó con eficacia superior en comparación al hipoclorito de sodio al 0.5%, e inclusive sobre clorhexidina 2%. Por el contrario, en el actual estudio se demostró que la clorhexidina al 2% es superior en eficacia bacteriana al compararlo con las soluciones de hipoclorito de sodio al 5.25% y al 2.5% e incluso a la del grupo control de hipoclorito de sodio 6.5% (2). No obstante, lo que si concuerda entre el estudio de Ayhan y el presente es que a mayor concentración el hipoclorito de sodio tiene mayor efectividad sobre la *Candida albicans*. Conjuntamente McComb y Smith (1975), Harrison, (1981), refieren que, el hipoclorito de sodio a menor concentración la citotoxicidad es reducida, pero sus acciones principales como desbridamiento del contenido radicular y las propiedades antimicrobianas se ven perjudicadas. (2).

Sin embargo Radcliffe, y cols. (2004), investigaron la susceptibilidad in vitro de *Candida albicans* ante el hipoclorito de sodio en tres concentraciones (1%, 2.5%, 5.25%), y establecieron que, esta solución en sus tres presentaciones eliminaba a la levadura en 10 segundos. No obstante en el presente trabajo de investigación se demostró que el hipoclorito al 5.25% e hipoclorito de sodio al 2.5% presentan igual acción antimicótica en la eliminación de *Candida albicans* de manera completa pero en un tiempo prolongado de tres minutos, razón por lo que difiere al estudio de Radcliffe. (3). Estos resultados podrían ser diferentes debido a que las dos investigaciones tienen diferente metodología, por tanto, el primero realiza el test de en minutos en un medio líquido para el crecimiento de levaduras mientras que en el presente estudio utiliza un medio de crecimiento sólido, de esta manera podría diferir el comportamiento de la levadura.

A su vez, Waltimo, y cols (1999), en su estudio in vitro, de susceptibilidad de *Candida albicans* a diferentes soluciones demostraron que, el hipoclorito de sodio (5% y 0.5%), elimina totalmente, a esta levadura en un periodo de tiempo de treinta segundos. Mientras que en el presente trabajo los resultados muestran eliminar a esta levadura con el hipoclorito de sodio al 2.5%, e hipoclorito de sodio al 5.25% totalmente en un

tiempo de tres minutos. Cabe destacar que al minuto el hipoclorito de sodio en estas concentraciones redujo colonias de *Candida*, mas no las eliminó de forma completa, lo que difiere al estudio de Waltimo. Sin embargo es importante resaltar que el grupo de control positivo (hipoclorito de sodio al 6.5%) utilizado en este estudio si logró eliminar las colonias de *Candida albicans* en un tiempo de un minuto (1).

Estrella y cols. (2002), examinaron in vitro mediante pruebas de exposición directa, el comportamiento antimicrobiano que presentan soluciones irrigantes como, hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones (0.5%, 1%, 2%) ante culturas mixtas de *S.aureus*, + *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*. Los resultados demostraron que, la solución hipoclorito de sodio en concentraciones (1%, 2%), se comportaron efectivos sobre dicha cultura en un tiempo de tres minutos. En cambio los resultados de la presente investigación detallan que la eliminación completa de levadura *Candida albicans* se da en tres minutos pero en soluciones de hipoclorito desde el 2.5%, en contraste al estudio de Estrella. (13). Por lo que se podría concluir que el hipoclorito de sodio a concentraciones iguales o menores al 2.5%, es efectivo contra la *Candida albicans*, en un tiempo cercano a los tres minutos.

Investigaciones publicadas acerca del comportamiento micótico que presenta el EDTA al 17%, son mínimas, sin embargo, Medina, (2001), refiere en su artículo que el EDTA, posee un pequeño efecto antibacterial, pero un alto efecto antimicótico sobre *Candida albicans*. (48). A su vez, De Luca (2006), sugiere que el EDTA al 17%, causa inhibición en el crecimiento de microorganismos micóticos, como *Candida albicans*, ya que inhibe el desarrollo de hifas, esporas y de esta manera ataca a la levadura, pero a la vez, manifiesta que el EDTA al 17%, no se comporta como un verdadero antifúngico. (41)

No obstante en el presente estudio fue posible corroborar lo mencionado anteriormente, ya que el EDTA al 17%, reveló tener el mayor efecto antimicótico entre las cuatro soluciones irrigantes empleadas en el estudio. Ello se podría explicar a que la *Candida albicans* es dependiente del calcio de la dentina y los agentes quelante como el EDTA al 17%, tienen como función descalcificar y desmineralizar dicho tejido mediante la captación de los iones de calcio, sodio, potasio y litio, es por eso que al quitarle el calcio a la *Candida albicans* esta muere por ausencia del componente cálcico. (54)

## 9. CONCLUSIONES

- De entre todas las sustancias estudiadas el EDTA al 17%, se comporta como el mejor antimicótico, ya que presenta estadísticamente la media más alta de zonas de inhibición bacteriana.
- Se exhibe en esta investigación que la Clorhexidina al 2%, presenta una acción antimicótica significativa.
- De las sustancias empleadas el hipoclorito de sodio al 5.25% e hipoclorito de sodio al 2.5%, se muestran deficientes eliminando colonias de *Candida albicans* en un tiempo corto.
- El grupo control positivo (hipoclorito de sodio 6.25%) evidencia eficacia antimicótica superior sobre el resto soluciones de hipoclorito de sodio, por tanto se concluye que, a mayor concentración el hipoclorito de sodio tiene mayor efectividad antimicótica.
- Los resultados obtenidos admiten extrapolar que clínicamente para eliminar *Candida albicans* las soluciones más idóneas a ser empleadas constituyen el EDTA al 17%, y Clorhexidina al 2%.

## 10. RECOMENDACIONES

- Las soluciones EDTA al 17% y Clorhexidina al 2%, eliminaron completamente a las colonias de *Candida albicans*, al tiempo de un minuto, por lo tanto se recomienda la realización de futuras investigaciones en menor tiempo.
- Se recomienda comparar la eficacia del EDTA al 17%, contra *Candida albicans* con otras sustancias irrigantes que contengan capacidades quelantes como lo es el MTAD
- El hipoclorito de sodio al 6.5% evidenció eficacia antimicótica, sin embargo no es una solución común usada en endodoncia. Se recomienda investigaciones acerca del hipoclorito de sodio en esta concentración, para analizar sus ventajas y desventajas y de esta forma emplear o no como solución irrigante en endodoncia.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Waltimo, T., Sirén, E., Ørstavik, D. Haapasalo, M. invitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations; International Endodontic Journal. 1999 32 (6), 421–429.
2. Ayhan, H., Sultan, N., Cirak, M., Ruhi, Z., Bodur, H. Antimicrobial effects of varios endodontic irrigants on selected microorganisms. International Endodontic Journal 1999.32, 99-102.
3. Radcliffe, C., Potouridou, L., Qureshi, R. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*, International Endodontic Journal, 2004.37, 438–446.
4. Davis, J., Maki, J., Bahcall, J. Comparison of antimicrobiano effect of several endodónticos medications on the *Enterococcus Faecalis*. International Endodontic Journal. 1999. 32, 99-102.
5. Aguilar, T. Aspectos Microbiológicos de la Periodontitis Apical Crónica Persistente.1999.[www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado\\_41.htm](http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_41.htm) - 249k .
6. Peciuliene, V., Haapasalo, M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root filled teeth with chronic apical periodontitis. 2001International Endodontic Journal, 34, 429–434.
7. Egan, M., Spratt, D., Lam, J., Moles, M., Gulabivala, K. Prevalence of yeasts in saliva and root canals ofteeth associated with apical periodontitis. International Endodontic Journal. 2002, 35, 321–329.
8. Waltimo, T., Sirén, E., Olsen, I., Haapasalo, M. Fungi in Therapy-resistant Apical Periodontitis. International Endodontic Journal. 1997 30, 96–101.
9. Molander, A., Reit, C. Microbiological status of root-filled teeth with apical Periodontitis. International Endodontic Journal. 1998 31, 1–7.
10. Rivas, R. Generalidades de Microbiología en endodoncia. Disponible en: [www.iztacala.unam.mx/~rrivas/articulos/microbiologia/estadoactual/reinke.html](http://www.iztacala.unam.mx/~rrivas/articulos/microbiologia/estadoactual/reinke.html) - 17k.

11. Ingle, J., Bakland, L. Endodoncia. Quinta Edición. Interamericana Mc- Graw-Hill. Mexico 2005.
12. Cohen, S., Burns, R. Vias de la pulpa. Octava edición. Mosby. St Louis 2002.
13. Estrela, C. Ciencia Endodóntica. Primera edición. Latinoamericana. España. 2005.
14. Sosa, L. Candida albicans. Disponible en: [www.odontologia-online.com/verarticulo/Candida\\_albicans.\\_Revision\\_de\\_la\\_literatura.html](http://www.odontologia-online.com/verarticulo/Candida_albicans._Revision_de_la_literatura.html) - 103k
15. Biasolil, M., Tosello, M., Bottai, H. Efecto de la temperatura y el pH en la adherencia de Candida albicans in Vitro. Rev Iberoam Micol. 1999 16: 46-49.
16. Papone, V. *Candida dubliniensis* y *Candida albicans* patógenos orales oportunistas fenotípicamente y filogenéticamente relacionados. Revista de la facultad de Odontología de la Universidad Católica del Uruguay. 2006 Vol III, Num 1, Pág. 36.
17. Cuenca, M., Gavaldá, J., Tudela, JL. Micología médica e infección fúngica. 2006. Disponible en: [icaac.medynet.com/pdf/3\\_1.pdf](http://icaac.medynet.com/pdf/3_1.pdf) -.
18. Torabinejad, M., Khademi, A. A new solution for the removal of the smear layer. J of Endod Prac. 2003. Vol 29 (3): 170-175
19. Ohara, P., Torabinejad, M. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. Endod Dent Traumatol. 1993. 9: 95-100.
20. Yesilsoy, C., Whitaker, E. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. J of Endod. 1995. 21(10):513-515.
21. Baumgarther, JC. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. J of Endod. 1987. 13:147.

22. Ohara, PK., Torabinejad, M. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. *Endod Dent Traumatol.* 1993. 9: 95-100.
23. Heling, I., CHandler, P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int. Dent. J.* 1998. 31: 8-14.
24. Hülsmann, M. Root canal Irrigation: objectives, solutions and techniques. *J of Endod Prac.* 1998. Vol 4 (1): 15-29
25. Yesilsoy, C., Whitaker, E. Root canal Irrigation: objectives, solutions and techniques Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J of Endod.* 1995. 21(10):513-515.
26. Hassapalo, J., Wagner, G. Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent cloros. *J Endod* 1990; 16: 328-330.
27. Cunningham, W. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg.* 1980.49(2): 175- 177
28. Gambarini G. Quemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigant. *J of Endod.* 1998; 24: 432-4.
29. Andersen, M., Lund, A., Andreasen, J. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endod Dent Traumatol.* 1992. 8(10):104-8.
30. Kuruvilla, J., Kamath, P. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J of Endod.* 1998. 24(7): 472-475
31. Georgopoulou, E., Kontakiotis, N. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid and sodium hypochlorite on the anaerobic flora of the infected root canal. *Int Endod J.* 1994. 27: 139-143.

32. Shiozawa, A. Characterization of reactive oxygen species generated from the mixture of NaOCl and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> used as root canal irrigants. *J of Endod.* 2000. 26(1): 11-15.
33. Baumgartner, J., Johal, S., Marshall, G. Comparison Antimicrobial Effectiveness of the irrigantes: NaOCl 1.3% MTAD NaOCl 5.25% EDTA 15%. *J of Endod.* 2007. 33: 14-117
34. Vahdaty, T., Pitt, R. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol.*1993. 9:243-248.
35. Leonardo, M R., Filho, MT. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J of Endod.* 1999. 25:167-171.
36. Ragno, J., Szkutnik, A. Evaluation of 0.12% chlorhexidine rinse on the prevention of alveolar osteitis. *Oral Surg Oral Med Oral pathol.*1991. 72:524. 2000.
37. White, R., Hays,G. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J of Endod.* 1997. 23(4): 229-231.
38. Jeansonne, M., White, R. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J of Endod.* 1994. 20(6): 276-278.
39. Anil, S., Ellepola, A., Samaranayake, L. The impact of chlorhexidine gluconate on the relative cell surface hydrophobicity of oral *Candida albicans*. *Oral Diseases.* 2001. 7, 119–122.
40. Heredia, J., Rodríguez S. **Uso de la Clorhexidina en Endodoncia.** 2008 Disponible en: [www.intramed.net/actualidad/](http://www.intramed.net/actualidad/).

41. De Lucca, J. In Vitro Inhibitory and Fungicidal Properties of EDTA for *Aspergillus* and *Fusarium*. 2006. Disponible en: [www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?seq\\_no\\_115=198423](http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?seq_no_115=198423) - 69k -.
42. Aktener, B., Bilkay, U. Smear layer removal with different concentrations of EDTA- Ethylenediamide mixtures. *J of Endod.*1993; 19(5):228-31.
43. Seideberg, B., Schilder, H. An evaluation of EDTA in endodontics. *Oral Surg.*1974. 37(4):609-20
44. Calvo, V., Medina, M. The possible role of ph changes during EDTA demineralization of teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1989. 68:220-2.
45. Azuero, MM., Tinjacá, V. Quelantes. Disponible en: [www.javeriana.edu.co/Facultades/Odontologia/posgrados/acadendo/i\\_a\\_revision26.html](http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Odontologia/posgrados/acadendo/i_a_revision26.html) - 41k -
46. Azuero, MM., Herrera, C. Irrigantes de Uso Endodónico, [www.javeriana.edu.co/Facultades/Odontologia/posgrados/acadendo/i\\_a\\_revision31.html](http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Odontologia/posgrados/acadendo/i_a_revision31.html) - 60k. Consultado el 22 de marzo de 2007
47. Weine FS. Tratamiento endodónico. Quinta. Edición, Harcourt Brace. Madrid. 1997
48. Medina, K. Visión actualizada de la irrigación en endodoncia más allá del hipoclorito de sodio. 2001. [www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado\\_19.htm](http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_19.htm) - 63k -.
49. Mueller Hinton Agar. Disponible en: [html.rincondelvago.com/medios-de-cultivo\\_1.html](http://html.rincondelvago.com/medios-de-cultivo_1.html) - 25k -.

50. Balandrano, F. Soluciones para irrigación en endodoncia: hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina. 2007. Disponible en: [www.colegiodentistas.org/cms/images/textos/revista/revista3/articulo3.pdf](http://www.colegiodentistas.org/cms/images/textos/revista/revista3/articulo3.pdf)

51. Pejoan, J. Irrigacion y desinfeccion en endodoncia. 2008. [www.endoroot.com/modules/news/index.php?storytopic=5](http://www.endoroot.com/modules/news/index.php?storytopic=5).

52. Ferreira, C., Pataro, A. In Vitro Effects of a Chlorhexidine Controlled Delivery System. 2003. *Artif Organs*, Vol. 27, No. 5.

53. Anil, S., Ellepola, AB., Samaranayake, LP. The impact of chlorhexidine gluconate on the relative cell surface hydrophobicity of oral *Candida albicans*. 2001. *Oral Diseases* 7, 119–122.

54. Ates, M., Akdeniz, BG., Sen, BH. The effect of calcium chelating or binding agents on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral*. Nov. 2005. 100(5):626-30.

55. Da Silva, FC., Kimpara, ET., Mancini, MN., Balducci, I. Effectiveness of Six Different Disinfectants on Removing Five Microbial Species and Effects on the Topographic Characteristics of Acrylic Resin. *J Prosthodont*. 2008 Aug 26.