

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



**EFFECTOS BACTERICIDAS DEL IRRIGANTE NEEM EN COMPARACIÓN
CON EL HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%: ESTUDIO *IN VITRO***

**TRABAJO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

PRESENTA

C.D. MISAEEL ARAFATH NAVARRO GONZÁLEZ

PRESIDENTE

(DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

SINODAL

(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

**DRA. MARÍA DE LOS REMEDIOS SÁNCHEZ
DÍAZ**

SINODAL

(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

SINODAL

**(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)
MC. OFELIA CANDOLFI ARBALLO**

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA; MÉXICO

JUNIO 2024

“2024, año de los pueblos yumaros, pueblos originarios y de las personas afroamericanas”
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, Baja California a, 5 de junio de 2024

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: EFECTOS BACTERICIDAS DEL IRRIGANTE NEEM EN COMPARACIÓN CON EL HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%: ESTUDIO *IN VITRO*.

Propuesto por el C.D. **MISAEEL ARAFATH NAVARRO GONZÁLEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ
PRESIDENTE

“2024, año de los pueblos yumaros, pueblos originarios y de las personas afroamericanas”
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, Baja California a, 5 de junio de 2024

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: EFECTOS BACTERICIDAS DEL IRRIGANTE NEEM EN COMPARACIÓN CON EL HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%: ESTUDIO *IN VITRO*.

Propuesto por el C.D. MISAEL ARAFATH NAVARRO GONZÁLEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”


DRA. MARÍA DE LOS REMEDIOS SÁNCHEZ DÍAZ
SINODAL

“2024, año de los pueblos yumaros, pueblos originarios y de las personas afroamericanas”
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, Baja California a, 5 de junio de 2024

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: EFECTOS BACTERICIDAS DEL IRRIGANTE NEEM EN COMPARACIÓN CON EL HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%: ESTUDIO *IN VITRO*.

Propuesto por el C.D. **MISAEAL ARAFATH NAVARRO GONZÁLEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”


DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ
SINODAL

“2024, año de los pueblos yumaros, pueblos originarios y de las personas afroamericanas”
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, Baja California a, 5 de junio de 2024

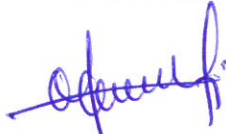
AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: EFECTOS BACTERICIDAS DEL IRRIGANTE NEEM EN COMPARACIÓN CON EL HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%: ESTUDIO *IN VITRO*.

Propuesto por el C.D. MISAEL ARAFATH NAVARRO GONZÁLEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.


A T E N T A M E N T E
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”



MC. OFELIA CANDOLFI ARBALLO
SINODAL

**EFFECTOS BACTERICIDAS DEL IRRIGANTE NEEM EN
COMPARACIÓN CON EL HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%:
ESTUDIO *IN VITRO*.**


PRESENTA



C.D. MISAEEL ARAFATH NAVARRO GONZÁLEZ

PRESIDENTE

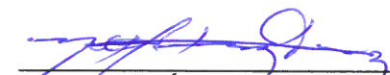
(DIRECTORA DEL PROYECTO)



DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

SINODALES

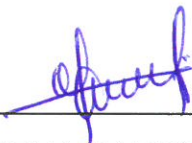
(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)



DRA. MARÍA DE LOS REMEDIOS
SÁNCHEZ DÍAZ



DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ
VELÁZQUEZ



MC. OFELIA CANDOLFI ARBALLO

Tijuana, Baja California, junio de 2024

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez por haberme dado la oportunidad de cursar mi especialidad en este posgrado de excelencia. A mis sinodales por su apoyo, paciencia y guía en la realización de mi trabajo terminal.

A mi pequeña, recuerdo como si fuera ayer cuando veíamos Hanna Montana en el consultorio los sábados en la mañana y ahora mira hasta donde hemos llegado, si te soy honesto yo siempre he creído que crecimos juntos, éramos unos pequeños cuando nos conocimos, gracias por la confianza que me brindaste desde el día uno y todas las enseñanzas que hasta la fecha me sigues dando, por esos jalones de orejas cuando me los merezco y cuando no también, gracias por ser una guía tan importante en mi formación, por siempre escucharme y contarme chismecitos. Love you 2 much un chingo pequeñita. A mis dos mejores amigos, Sidney y Josias, gracias por siempre estar en los mejores y peores momentos de mi vida y por todo el apoyo que siempre me han demostrado. Dra. Arzamendi y Dr. Alvelais, aún recuerdo cuando me tocó recursar la clínica de pediatría con la Dra. Arzamendi al entrar me dijo: - ¿Y tú qué estás haciendo aquí? Te dije que no te quería en mi clínica de repetidor. Dra. Algo que jamás voy a olvidar es que un día me dijo: - Hijo, en esta vida todo tiene solución menos la muerte. Y mire que tenía toda la razón y Dr. Alvelais, ¿Qué le puedo decir? Mil gracias por todo el apoyo que me han brindado, gracias por ayudarme a nacer, en verdad los quiero muchísimo a los dos.

Dra. Verónica Gonzalez, hígole recuerdo cuando la conocí en valle, fue un click inmediato, un día usted me lo dijo y con el paso de los años lo he comprobado, somos personas demasiado similares que hasta cuando el estres llega a sacar lo peor de nosotros reaccionamos de la misma manera; Profe mil gracias por haber aceptado ser mi tutora en la licenciatura, por guiarme, escucharme, darme consejos,

AGRADECIMIENTOS

grandes apoyos que quizás no se ha dado cuenta, pero créame que tiene un valor enorme para mí. Profe Vero la quiero mucho, gracias por tanto.

Hijole tengo a tantas personas a las cuales agradecer por este logro tan grande que hoy estoy cumpliendo: Susy que te digo te quiero muchísimo, gracias por siempre escucharme y por tus audios de 1000 horas y gracias por aquel día de prope que me alimentaste, Dra. Tania, muchísimas gracias por tanto consejos y obvio por mis dientes derechos. Quiero agradecer a mis suegros por tantísimo apoyo que he recibido de su parte. Suegra muchas gracias por siempre tratarme como a un hijo más.

Dr. Mike, Dra. Gaby y Dra. Dulce Magaña, quiero agradecerles infinitamente por haber estado en un momento crítico de mi vida, haberme apoyado y alentado a no desistir de la especialidad, es algo que jamás en la vida voy a olvidar ya que sus palabras siempre las voy a llevar en mi corazón, gracias, gracias, gracias.

Gracias a mis dos madres de Tepa (tierra de oro, sagrada, la tierra prometida), Tia Tere, Kary, gracias por haberme recibido en su casa en el tiempo que estuve de intercambio, por hacerme lonche, comida, llevarme a la escuela, cuidarme y tratarme como su hijo de Tijuana. Las amo y extraño tanto.

A mis compañeros de generación, quienes en estos dos años se convirtieron en mi familia, vivimos tantas cosas juntos: viajes, congresos, risas, convivios, llantos, estrés, una que otra discusión, entre muchísimas cosas más. Pero en verdad si me dieran a elegir con quien estar en otra especialidad no cambiaría a ninguno de ustedes, me llevo aprendizajes de cada uno, me quedo con lo mejor y tengan por seguro que en mí siempre tendrán un amigo. En hora buena colegas, lo logramos, el día que tanto estuvimos esperando llego, que orgullo de vernos aquí, listos para salir al mundo de la endodoncia con nuestra maletita y cajita, ahora a estresarnos porque no encontramos el conducto y no podremos gritar: Dr. no encuentro el

AGRADECIMIENTOS

conducto o Dra. se me separó la lima. Los amo y les deseo todos los éxitos del mundo.

Por último y no menos importante, esta Tesis tiene una dedicatoria especial para cinco de las personas más importantes de mi vida:

Mi padre y mi madre: Gracias por educarme, guiarme así como siempre darme todo su apoyo, por ser los maravillosos padres que siempre han sido conmigo, por sus enseñanzas, consejos, regaños, abrazos, pero sobre todo por el amor que día a día me demuestran, ustedes son parte clave de todo esto, a ustedes les debo el hombre que soy hoy en día. Los amo.

A mi hermana: Chavelita de mi corazón, tantas cosas que decirte, gracias por ser una guía en mi vida, por siempre apoyarme en mis locuras, por tus consejos, por tus regaños, por siempre darme ese empujoncito que a veces necesito para seguir adelante, por siempre creer en mí. Recuerda que me tienes a mí. Te amo

A mi hijo: Chícharo sé que hay veces que puedo parecer enojón, gruñón, imponente o que solo quiero estar molestando, pero créeme que todo lo que hago es por tu bien, quiero agradecerte por tener la paciencia de que no siempre puedo estar contigo, pero sabes que esto es por y para ti, espero que Dios me siga dando la capacidad de seguir guiando por el buen camino. Quiero que siempre te sientas orgulloso de mi. Mi niño, aquí estoy yo. Te amo.

A mi esposa: Mi amor quiero empezar por agradecer que, a pesar de altas y muy bajas, aquí estás a mi lado apoyándome, gracias por siempre apoyarme en todas mis locuras, gracias por alentarme a ser mejor personas, por caminar de la mano junto a mi, gracias por permitirme crecer a tu lado, por ser mi compañera de vida, gracias por darme aliento cuando el estrés quería hacerme caer, por siempre decirme: Tu puedes amor ya casi, por darme esos empujoncitos que a veces pudieran parecer pequeños pero que para mí son enormes. Mi amor, mis logros son

AGRADECIMIENTOS

tan tuyos como míos, ¿Qué crees? LO LOGRAMOS MI VIDA, ya terminamos la especialidad, se logró por lo que tanto soñamos y luchamos, esta va por nosotros corazón, aunque aún falta otro escaloncito, te toca a ti y aquí voy a estar yo para apoyarte y darte ese empujoncito, que sé que ciertos ser un empujonsote. Mi amor eras, eres y seras el amor de mi vida. Gracias, por tanto. Te amo.

LOS AMO INCONDICIONALMENTE.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Se agradece a CONACYT por la beca otorgada. Con número de CVU: 1226206.

Se agradece al Laboratorio de microbiología de la de la Facultad de Ciencias de la Salud Valle de las Palmas, Universidad Autónoma de Baja California. Responsable: Dra. Nydia Alejandra Castillo Martínez.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
I. RESUMEN.....	1
I. ABSTRACT	2
II. INTRODUCCIÓN	2
2.1. ENDODONCIA	2
2.2. INFECCIÓN PULPAR.....	3
2.1.1. INFECCIÓN ENDODÓNTICA PRIMARIA.....	4
2.1.2. INFECCIÓN ENDODÓNTICA SECUNDARIA.....	4
2.2.3. INFECCIÓN ENDODÓNTICA PERSISTENTE	5
2.2. PATOLOGÍA PERIAPICAL	5
2.2.1. Periodontitis apical sintomática (PAS)	5
2.2.2. Periodontitis Apical Asintomática (PAA).....	6
2.2.3. Absceso Apical Agudo (AAA).....	6
2.2.4. Absceso Apical Crónico (AAC)	7
2.2.5. Osteítis condensante (OC)	7
2.3. MICROBIOLOGÍA	7
2.4. IRRIGACIÓN	7
2.4.1. Hemodinámica de la irrigación.....	8
2.5. IRRIGANTES.....	8
2.5.1. Características ideales de un irrigante endodóntico.....	8
2.6. HIPOCLORITO DE SODIO (NaOCl).....	10
2.7. SOLUCIÓN IRRIGANTE A BASE DE NEEM (<i>Azadirachta indica</i>).....	10
2.7.1. <i>Azadirachta indica</i> en odontología	11
2.7.2. <i>Azadirachta indica</i> como irrigante del conducto radicular	11
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13

IV. JUSTIFICACIÓN	14
V. HIPÓTESIS	15
5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	15
5.2. HIPÓTESIS NULA (H0)	15
5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1)	15
VI. OBJETIVOS	16
6.1. OBJETIVO GENERAL	16
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
VII. VARIABLES	17
7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE.....	17
7.2. VARIABLE DEPENDIENTE	17
7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES.....	17
VIII. MATERIALES Y METODOS	18
8.1. TIPO DE ESTUDIO.....	18
8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO	18
8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL	18
8.4. METODOLOGÍA.....	19
8.4.1. MACERACIÓN DEL NEEM	19
8.4.2. PRUEBA DIFUSIÓN DE DISCO.....	20
8.4.3. PRUEBA DE MICRODILUCIÓN	22
8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
IX. RESULTADOS.....	24
9.1. PRUEBA DE DIFUSIÓN DE AGAR.....	24
9.2. MICRODILUCIÓN.....	26
X. DISCUSIÓN.....	28
XI. CONCLUSIONES.....	30
XII. RECOMENDACIONES.....	31
XIII. BIBLIOGRAFÍA.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Preparación de NEEM.....	19
En la figura 1 se observa blalbaSe muestra (A) Hojas de NEEM secas. (B) Macerado de NEEM.	19
Figura 2. Espectrofotómetro (Thermolsher Scientific- GENESYS).	21
Equipo que ayuda a determinar el nivel de absorbancia de las muestras.	21
Figura 3. Cultivo de <i>E. faecalis</i> en cromoagar	21
Se pude observar como el <i>E. faecalis</i> se tiñe de un color azul.....	21
Figura 4. Tubos Eppendorf y cajas de Petri en incubadora.	22
Se observa: (A) Preparación de cultivo liquido Mueller Hinton (B)Tubos Eppendorf con cultivo, NEEM.....	22
Tabla 1. Halos de inhibición (mm) del hipoclorito de sodio vs <i>E. faecalis</i>	24
.....	25
Figura 5. Gráfica de promedio de las medidas de los halos de inhibición del NEEM y el Hipoclorito de sodio vs <i>E. faecalis</i> y <i>C. albicans</i>	25
Figura 6. Grafica de halos de inhibición del hipoclorito de sodio vs <i>E. faecalis</i>	25
Figura 7. Resultados de difusión en disco.....	26
(A) Cultivo de <i>C. albicans</i> en cromo agar. (B) Placa de agar con discos inmersos en NEEM vs <i>C. albicans</i>	26
Figura 8. Gráficas de medidas de absorbancia <i>C. albicans</i>	26
Figura 9. Gráfica de medidas de absorbancia <i>E. faecalis</i>	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Halos de inhibición del Hipoclorito de sodio vs *E. faecalis*, expresada en milímetros. 24

LISTA DE ABREVIATURAS

AAA	Absceso Apical Agudo
A	Absorbancia
AAC	Absceso Apical Crónico
CHX	Clorhexidina
H₂S	Compuestos sulfurados
g	Gramos
NaOCl	Hipoclorito de sodio
LPD	Ligamento periodontal
L	Litros
μL	Microlitros
ml	Mililitros
nm	Nanometros
OC	Osteítis condensante
PAA	Periodontitis Apical Asintomática
PAS	Periodontitis apical sintomática
u.a.	Unidades arbitrarias

I. RESUMEN

Introducción: La irrigación se define como el lavado de una cavidad corporal o herida con agua o un líquido medicado. En endodoncia, implica la introducción de una o más soluciones en la cámara pulpar y los conductos radiculares antes, durante y después de la preparación biomecánica para desinfectar y limpiar el sistema de conductos, eliminando así la etiología de las patologías pulpares y periapicales. **Objetivos:** Evaluar la capacidad antimicrobiana de NEEM e hipoclorito de sodio como irrigantes intracanal contra *E. faecalis* y *C. candida* a través de estudios *in vitro*. **Materiales y métodos:** Se trabajó en condiciones de esterilidad en cabina de flujo laminar. Los sensidiscos se colocaron en una loseta de papel. Luego, con una micropipeta, se tomaron 4 de Neem y se colocó en cada uno de los sensidiscos. La caja de Petri con el medio de cultivo se abrió cerca del mechero. Utilizando un hisopo estéril, se sumergió en los tubos de ensayo con solución madre de *E. faecalis* y *C. candida* (Obtenida del estándar de McFarland), se esparció en la totalidad de la caja de Petri, asegurando una cobertura completa, utilizando la técnica de barrido en césped, se colocaron discos inmersos en hipoclorito de sodio y solución de NEEM, posteriormente se llevaron a incubadora a 37 °C por 24 horas. También se realizó estudio en microdilución, donde se colocó en tubos medio de cultivo líquido, bacteria/hongo e irrigante (NEEM o hipoclorito), se llevaron a incubadora por 24 horas a 37 °C. **Resultados:** Durante la experimentación, se observó que el hipoclorito de sodio tuvo la mejor inhibición contra *E. faecalis*, mostrando un halo de inhibición máximo de 31 mm. Para *C. albicans*, no se observó crecimiento en la placa de agar donde se colocaron los discos con hipoclorito de sodio. **Conclusiones:** El hallazgo significativo de este estudio fue que, durante la difusión en agar y la microdilución, el NEEM no exhibió propiedades antibacterianas contra *E. faecalis* y *C. albicans*, ya que se observó crecimiento bacteriano; mientras que en las muestras de hipoclorito de sodio se observaron halos de inhibitorios de hasta 31 mm contra *E. faecalis* y no hubo crecimiento de *C. albicans*.

I. ABSTRACT

Introduction: Irrigation is defined as the washing of a body cavity or wound with water or a medicated liquid. In endodontics, it involves the introduction of one or more solutions into the pulp chamber and root canals before, during, and after biomechanical preparation to disinfect and clean the canal system, thereby eliminating the etiology of pulpal and periapical pathologies. **Objetives:** To evaluate the antimicrobial capacity of NEEM and sodium hypochlorite as intracanal irrigants against *E. faecalis* and *C. albicans* through in vitro studies. **Materials and Methods:** Work was conducted under sterile conditions in a laminar flow hood. Sensidiscs were placed on a paper tile. Then, using a micropipette, four drops of Neem were taken and placed on each of the sensidiscs. The Petri dish with the culture medium was opened near the burner. Using a sterile swab, it was dipped into the test tubes with the stock solution of *E. faecalis* and *C. albicans* (obtained from the McFarland standard), spread over the entire Petri dish, ensuring complete coverage using the lawn sweeping technique. Discs immersed in sodium hypochlorite and NEEM solution were placed, then incubated at 37 °C for 24 hours. A microdilution study was also conducted, where liquid culture medium, bacteria/fungus, and irrigant (NEEM or sodium hypochlorite) were placed in tubes and incubated for 24 hours at 37 °C. **Results:** During experimentation, it was observed that sodium hypochlorite had the best inhibition against *E. faecalis*, showing a maximum inhibition halo of 31 mm. For *C. albicans*, no growth was observed on the agar plate where the disks with sodium hypochlorite were placed. **Conclusions:** The significant finding of this study was that, during agar diffusion and microdilution, NEEM exhibited no antibacterial properties against *E. faecalis* and *C. albicans*, as bacterial growth was observed. In contrast, in the sodium hypochlorite samples, inhibitory halos of up to 31 mm were observed against *E. faecalis*, and no growth of *C. albicans* was observed.

II. INTRODUCCIÓN

2.1. ENDODONCIA

La Endodoncia es una especialidad de la Odontología, reconocida como tal por la Asociación Dental Americana en 1963, esta va a estudiar la estructura, morfología y fisiología de las cavidades dentarias coronales y radiculares, que contienen la pulpa dental y, a su vez, va a tratar las afecciones del complejo dentinopulpar y la región periapical (1,2).

Los avances en esta ciencia, las técnicas de asepsia y los principios de preparación y obturación de conductos radiculares han permitido aumentar la tasa de éxito del tratamiento endodóntico, sobre todo en los órganos dentarios, en los que se logra un buen sellado apical; sin embargo, aún se presentan problemas que derivan en retratamientos, que dependen sobre todo en variaciones anatómicas y otras condicionantes que complican el tratamiento (1).

El éxito del tratamiento de conductos depende, en primer término, de la limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares, y esto se realiza mediante el procedimiento conocido como Preparación Biomecánica. El término biomecánica es introducido en Endodoncia desde 1953, cuando fue utilizado en la *Segunda Convención Internacional de Endodoncia de la Universidad de Pensilvania, Philadelphia*, para designar el conjunto de intervenciones técnicas que preparan la cavidad pulpar para su posterior obturación (3).

Shilder ha denominado Limpieza y Conformación a la eliminación de todo el sustrato orgánico del sistema de conductos radiculares, así como a la elaboración de una forma determinada dentro de cada conducto para la recepción de una obturación hermética y tridimensional en todo el espacio de estos, destacando la necesidad del desbridamiento, que consiste en retirar del sistema de conductos radiculares los irritantes existentes (3,4).

II. INTRODUCCIÓN

2.2. INFECCIÓN PULPAR

El complejo pulpodentinario tiene como funciones mantener la vitalidad del diente y su funcionalidad y reaccionar ante estímulos. Las afecciones pulpares causadas por traumatismos o caries, como la necrosis pulpar, generan la pérdida de la sensibilidad y vitalidad del diente, dañando gravemente los tejidos periapicales (4,5).

La pulpa dental es un tejido muy dinámico que responde a los estímulos externos de diferentes maneras. La exposición pulpar a la caries dental, su imposibilidad de expandirse y la escasez de circulación colateral determinan su susceptibilidad a la lesión y complican su regeneración. Además, la pulpa está dotada de una rica irrigación neurovascular que favorece los efectos de la inflamación y que puede conducir a una rápida degeneración y terminar con necrosis pulpar (6,7).

Siempre que la dentina está expuesta existe riesgo de infección de la pulpa como consecuencia de la permeabilidad de los túbulos dentinarios. Se ha sugerido la existencia de diversas vías posibles de comunicación entre la pulpa dental y el periodonto que llevan a la aparición de una interacción patológica entre ambos tejidos, estas posibles vías son: conductos laterales, túbulos dentinarios, surcos palatogingivales, ligamento periodontal, foramen apical y drenaje linfático. Cuando existen, estas comunicaciones pueden servir como vías de reciprocidad inflamatoria entre tejidos (6).

El objetivo final del tratamiento endodóntico es prevenir el desarrollo de la periodontitis apical o cuando la enfermedad ya está presente, crear las condiciones adecuadas para la curación del tejido perirradicular (2).

La infección de la pulpa dental moviliza los microorganismos a desarrollarse en sentido apical, invadiendo y colonizando los tejidos periapicales, estimulando así la respuesta inflamatoria e inmunológica. Entre los mecanismos patogénicos bacterianos en la enfermedad periapical se encuentran: invasión, producción de exotoxinas, constituyentes celulares (endotoxinas, componentes de superficie,

II. INTRODUCCIÓN

cápsulas), producción de enzimas (colagenasa, hialuronidasa, fosfatasa ácida, fibrinolisisina, coagulasa, proteasa, enzima degradadora de fibronectina), productos del metabolismo microbiano (ácidos grasos, ácido propiónico, butírico y acético, amonio, compuestos sulfurados (H₂S), indol), y la evasión de las respuestas inmunológicas del huésped (2,8).

Por lo tanto, la respuesta periapical está determinada por la combinación del efecto bacteriano directo e indirecto sobre las defensas del huésped (8).

2.1.1. INFECCIÓN ENDODÓNTICA PRIMARIA

La infección primaria es causada por la invasión y colonización del tejido pulpar necrótico. Los microorganismos participantes pueden haber estado implicados en las primeras fases de invasión pulpar, generalmente a través de caries que ha culminado en la inflamación y posterior necrosis; o bien pueden haber sido los últimos microorganismos en llegar que han aprovechado las condiciones ambientales que prevalecen en el conducto radicular después de la necrosis pulpar. Se caracterizan por tener una microbiota polimicrobiana con predominio de bacterias anaerobias, particularmente especies gram negativas de los géneros *Fusobacterium*, *Treponema*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, y *Campylobacter*; especies gram positivas anaerobias de los géneros *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* y *Pseudoramibacter*, así como *Streptococcus* facultativos o microaerófilos (2,4,8–10).

2.1.2. INFECCIÓN ENDODÓNTICA SECUNDARIA

La infección secundaria es causada por microorganismos que no están presentes en la infección primaria pero que son introducidos en el conducto radicular en algún momento después de la intervención profesional; durante el tratamiento (placa dentobacteriana, cálculo dental o restos de caries), entre citas (pérdida del material provisional, fractura dental o drenaje abierto del conducto), o después de la obturación (pérdida de la restauración, recidiva de caries, fractura dental o retraso en la colocación de la restauración final) (4,8,9)

2.2.3. INFECCIÓN ENDODÓNTICA PERSISTENTE

La infección intrarradicular persistente se debe a microorganismos que han resistido los procedimientos antimicrobianos y que han sobrevivido en el conducto tratado; los microorganismos implicados son restos de una infección primaria o secundaria que en algún momento entraron en el sistema de conductos radiculares. Este tipo de infección puede ser responsable de causar problemas clínicos, tales como exudado, persistencia de síntomas o exacerbaciones, y la persistencia de una lesión radiolúcida a pesar del tratamiento de conductos (4,8).

2.2. PATOLOGÍA PERIAPICAL

La periodontitis apical es un término general usado para describir el proceso inflamatorio periapical que se produce en respuesta a la presencia de microorganismos y otras sustancias irritantes en el sistema de conductos radiculares de un diente. Aunque muchos pacientes desarrollarán periodontitis apical sin tener síntomas durante un largo período de tiempo, es muy probable que haya una exacerbación aguda en algún momento y luego varios signos y/o síntomas se volverán evidentes (11,12).

Tejido apical normal: diente con tejido periapical normal, sin sensibilidad a las pruebas de percusión y palpación. La lámina dura alrededor de la raíz, está intacta y el espacio del ligamento periodontal es uniforme (11).

2.2.1. Periodontitis apical sintomática (PAS)

Es la inflamación del periodonto apical, puede causar molestias espontáneas de carácter moderado o intenso y dolor al morder o la percusión o palpación. Cuando representa la extensión de una pulpitis se observa también una respuesta al frío, el calor y la electricidad. Cuando la PAS se debe a necrosis pulpar no responde a pruebas de vitalidad. La PAS puede o no estar asociada a una radiolucidez apical, uno de los signos radiológicos puede ser el ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal (LPD) pero generalmente está normal y hay una lámina dura

II. INTRODUCCIÓN

intacta. Los síntomas suelen remitir tras el ajuste de la oclusión (cuando existe), la supresión de los factores irritantes o de la pulpa enferma, o la supresión del exudado periapical (11).

2.2.2. Periodontitis Apical Asintomática (PAA)

Por definición, es un proceso clínicamente asintomático que se acompaña de inflamación y destrucción de los tejidos periapicales. Se debe a la necrosis de la pulpa y suele representar una secuela de la PAS. Los dientes con PAA no responden a los estímulos eléctricos o térmicos. La percusión provoca dolor mínimo o nulo y a la palpación puede apreciarse una pequeña sensibilidad, lo que indica que está alterada la placa ósea cortical y que la PAA se ha extendido a los tejidos blandos. Los signos radiológicos pueden ir desde una interrupción de la lámina dura hasta una destrucción muy extensa de los tejidos periapicales y extrarradiculares. La PAA, desaparece tras la supresión de los irritantes que la originan (necrosis pulpar) y la obturación completa de los conductos radiculares (2,4,11).

2.2.3. Absceso Apical Agudo (AAA)

Es una lesión por licuefacción localizada o difusa. La reacción inflamatoria a la infección y necrosis pulpar se caracteriza por un inicio rápido, dolor espontáneo, sensibilidad de los dientes a la presión, formación de pus e inflamación de tejidos asociados (hinchazón), la cual no se observa si el absceso se limita al hueso. En ocasiones produce manifestaciones sistémicas de un proceso infeccioso, como hipertermia, malestar y leucocitosis. La estimulación eléctrica y térmica no produce ninguna respuesta. No obstante, puede aparecer dolor a la percusión y palpación. Radiológicamente pueden ir desde la ausencia de cambios hasta lesiones radiotransparentes muy visibles, con ensanchamiento del espacio de LPD. La mayoría de los AAA desaparecen al drenar la presión y realizar un tratamiento endodóntico rutinario (2,4,11).

II. INTRODUCCIÓN

2.2.4. Absceso Apical Crónico (AAC)

Es un trastorno inflamatorio de origen pulpar que se caracteriza por la presencia de una lesión antigua que ha dado paso a un absceso que drena hasta una superficie mucosa (tracto sinuoso) o cutánea. Debido a la existencia del drenaje, suele ser asintomático, salvo cuando se produce el cierre ocasional del tracto sinuoso, en cuyo caso puede producir dolor. Las manifestaciones clínicas, radiográficas e histopatológicas son similares a una PAA, con la adición tracto sinuoso (2,4,11).

2.2.5. Osteítis condensante (OC)

Esta categoría es una variante de la PAA. Radiográficamente se observa como una lesión radiopaca difusa que representa una reacción localizada ósea; suele ubicarse alrededor de los ápices de los dientes inferiores posteriores (2,4,11).

2.3. MICROBIOLOGÍA

Las infecciones del conducto radicular son multibacterianas, donde organismos anaeróbicos denominados especies bacteroides, desempeñan un papel importante en los signos clínicos y en los síntomas de las enfermedades pulpares y periapicales. Donde podemos hablar sobre el *E. faecalis* y la *C. albicans* (13–15).

El *E. faecalis* es una bacteria gram positiva que se caracteriza por su gran resistencia dentro de los conductos radiculares, aunque ya se haya realizado algún tratamiento de conductos. La *C. albicans* es un hongo que vamos a poder localizar en la flora de la cavidad oral donde este si ocurre un desequilibrio inmunológico se puede activar y hablando del siste de conductos radiculares, es un hongo resiste que al igual que el *E. faecalis* puede permanecer dentro de este aun ya realizado el tratamiento de conductos (13–15).

2.4. IRRIGACIÓN

Irrigación se define como el lavado de una cavidad o herida corporal con agua o un líquido medicado; en endodoncia, consiste en la introducción de una o más

II. INTRODUCCIÓN

soluciones en la cámara pulpar y conductos radiculares antes, durante y después de la preparación biomecánica para desinfectar y limpiar el sistema de conductos y eliminando así la etiología de las patologías pulpares y periapicales (2,16,17).

Los objetivos de la irrigación son mecánicos y biológicos. El objetivo mecánico es eliminar residuos, lubricando el conducto y disolviendo tejido orgánico e inorgánico. La función biológica de los irrigantes se relaciona con su efecto antimicrobiano (2,18).

2.4.1. Hemodinámica de la irrigación

La eficacia de la irrigación del conducto radicular en cuanto a eliminación de residuos y erradicación de bacterias depende de varios factores: profundidad de penetración de la aguja, diámetro del conducto radicular, diámetro interno y externo de la aguja, presión de irrigación, viscosidad del irrigante, velocidad del irrigante en la punta de la aguja y tipo y orientación del bisel de la aguja (2,19).

El tamaño y longitud de la aguja de irrigación respecto a la dimensión del conducto es fundamental para que la irrigación adecuada sea eficaz. Si el diámetro externo de la aguja es demasiado grande o rígido, puede impedir la introducción del irrigante en el punto más apical del conducto radicular o en áreas de conductos curvos. El diámetro interno de la aguja se correlaciona con la presión necesaria para mover el émbolo de la jeringa y la velocidad a la que sale el irrigante (2).

2.5. IRRIGANTES

2.5.1. Características ideales de un irrigante endodóntico

Para aumentar la eficacia de la preparación mecánica y la eliminación de bacterias, la instrumentación debe complementarse con soluciones de irrigación activas (2,7).

II. INTRODUCCIÓN

La desinfección del sistema de conductos radiculares depende en gran medida de las propiedades del agente irrigante. Para conseguir los objetivos planteados del tratamiento de conductos, se requieren las siguientes características : (2,7).

1. Ser germicida y fungicida eficaz
2. No irritar los tejidos periapicales
3. Mantenerse estable en solución
4. Tener un efecto antimicrobiano prolongado
5. Ser activo en presencia de sangre, suero y derivados proteicos del tejido
6. Tener una tensión superficial baja
7. No interferir en la reparación de los tejidos periapicales
8. No teñir la estructura dental
9. Poder inactivarse en un medio de cultivo
10. No inducir una respuesta inmune celular
11. Poder eliminar completamente el barrillo dentinario y poder desinfectar la dentina subyacente y sus túbulos
12. No ser antigénico, tóxico ni carcinógeno para las células tisulares que rodean al diente
13. No tener efectos adversos en las propiedades físicas de la dentina expuesta
14. No tener efectos adversos en la capacidad de sellado de los materiales obturadores
15. Ser de aplicación práctica
16. Ser relativamente económico.

2.6. HIPOCLORITO DE SODIO (NaOCl)

El hipoclorito de sodio es la solución irrigante más utilizada en el campo endodóntico, ya que posee muchas de las propiedades deseables de un irrigante de conducto radicular principal y, por tanto, se ha descrito como el irrigante de elección (7,18,20).

Se le atribuye potencial antibacteriano, capacidad para disolver tejido pulpar necrótico o vital y los componentes orgánicos de la dentina y biopelículas (2).

En el campo endodóntico, tiene una actividad antimicrobiana de amplio espectro frente a microorganismos y biopelículas endodónticos, incluyendo aquellos difíciles de erradicar de los conductos radiculares, como las especies *Enterococcus*, *Actinomyces* y *Candida* (2,21).

Durante la terapia endodóntica, las soluciones de NaOCl se usan a concentraciones variables entre el 0,5 y el 6%. Las concentraciones menores (p. ej., 0,5 o 1%) disuelven principalmente el tejido necrótico. En algunos casos puede estar indicado utilizar el NaOCl a máxima concentración (6%); pero, aunque las mayores concentraciones pueden aumentar el efecto antibacteriano *in vitro*, no se ha demostrado concluyentemente la mayor efectividad clínica de las concentraciones por encima del 1% (2,18,22).

2.7. SOLUCIÓN IRRIGANTE A BASE DE NEEM (*Azadirachta indica*)

Azadirachta indica es una planta común que se cultiva en varias partes de la India por motivos religiosos y medicinales, también conocida como *Neem*, pertenece a la familia *Meliaceae* y sus compuestos se dividen en dos clases principales: isoprenoides y no isoprenoides. Cada parte del árbol, incluidas las hojas, la corteza y las semillas, tienen propiedades medicinales, como: antiinflamatoria, antipalúdica, antimicrobiana, antiviral, antifúngica, antipirética, antioxidante, analgésica, inmunoestimulante, antifertilidad, antiacné, antihipoglucemiante, anticancerígena y nematocida (23).

II. INTRODUCCIÓN

2.7.1. *Azadirachta indica* en odontología

El extracto de *Neem* es un agente antibacteriano natural, el cual tiene efecto contra microorganismos causantes de la caries dental como: *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis* y *S. sanguis*, utilizado como palitos secos masticables, así como también se ha atribuido su efecto antibacteriano contra *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)(24–26).

El extracto etanólico y acuoso de la hoja de *NEEM* tiene un efecto significativo en la adhesión, la hidrofobicidad de la superficie celular y la formación de biopelículas, que pueden afectar la colonización por *Candida albicans* (*C. albicans*) (24,27).

El aceite de *NEEM* muestra una actividad antibacteriana significativa y se ha sugerido para su uso en el tratamiento de la placa dental. Así como se ha encontrado que el gel dental mucoadhesivo que contiene *Azadirachta indica* es beneficioso para reducir el índice de placa y el recuento de bacterias salivales es comparativamente mejor que el enjuague bucal con gluconato de clorhexidina (24,27).

El extracto de hoja de enjuague bucal de *NEEM* es tan efectivo como la clorhexidina (CHX) para reducir los índices periodontales y puede usarse como una terapia alternativa en el tratamiento de la enfermedad periodontal, mostrando así su biocompatibilidad con el fibroblasto periodontal humano (28).

Se ha descubierto también que la barra de *NEEM* es eficaz como cepillo de dientes para reducir la placa dental y la inflamación gingival (24,27).

2.7.2. *Azadirachta indica* como irrigante del conducto radicular

Las propiedades antioxidantes y antimicrobianas convierten al *NEEM* en un agente potencial para la irrigación de conductos radiculares como alternativa del NaOCl. La literatura sugiere que el extracto de hoja de *NEEM* tiene un efecto antimicrobiano

II. INTRODUCCIÓN

eficaz contra *E. faecalis* y *C. albicans* en comparación con el NaOCl al 2% y la CHX al 0.2% (27).

Se han documentado diferentes técnicas para estudiar los atributos que posee esta planta, una de las más relevantes para elaborar el irrigante de *Neem* es a partir del extracto de la hoja. El proceso consiste en la recolección y lavado de 25 gr de hojas maduras de *Neem* con agua destilada esterilizada, se agregan a 50 ml de etanol absoluto y la mezcla se macera por 1 o 2 minutos. El extracto se filtra a través de papel filtro. Se repite el proceso de extracción utilizando el residuo grueso con 25 ml de etanol y se filtra nuevamente. Ambos extractos deben mezclarse y filtrarse con papel de filtro rápido. La porción de alcohol debe eliminarse del extracto en un baño de agua hasta que el volumen sea de 25 ml. La temperatura no debe superar los 45-50 °C. Después de aproximadamente 6 horas el líquido está listo para utilizarse como irrigante y debe almacenarse en un recipiente hermético (24).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El hipoclorito de sodio cumple con la mayoría de los requisitos para poder ser considerado un irrigante ideal y es por eso que se considera como irrigante de elección. Pero el problema de mayor importancia que presenta el hipoclorito, es que es altamente tóxico para los tejidos y esto, a pesar de ser el adecuado, hace necesario la búsqueda de nuevas alternativas para la desinfección de conductos.

Es de suma importancia que nuestro irrigante cumpla con todos los requisitos para poderlo considerar como "ideal". Hasta la fecha no se ha encontrado un irrigante que cumpla con todas las especificaciones, como bien sabemos el hipoclorito es el irrigante que más se acerca a ser el ideal

Con base a lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación. ¿El irrigante a base de extracto de NEEM tendrá una acción antimicrobiana mejor que la que tiene el Hipoclorito de sodio?

IV. JUSTIFICACIÓN

El efecto antimicrobiano que presentan los irrigantes al momento de realizar la preparación biomecánica de los conductos, es muy importante ya que de estos va a depender el éxito o el fracaso del tratamiento de conductos.

El hipoclorito de sodio, el irrigante hasta ahora con propiedades antimicrobianas que posee un gran espectro antimicrobiano, no es biocompatible, es altamente tóxico con los tejidos perirradiculares. Esto nos lleva a la búsqueda de otras sustancias irrigantes que sean tanto biocompatibles como antimicrobianas y es el *Azadirachta indica* que nos ofrece beneficios muy prometedores por su gran espectro antimicrobiano con diferentes tipos de microorganismos, propiedades antiinflamatorias y por ser biocompatible. La aportación al estado del arte de una investigación es: Introducir la *Azadirachta indica* como un irrigante alternativo y/o complementario de la endodoncia, que sea tanto biocompatible como antimicrobiano de alto espectro.

Se han propuesto diferentes usos terapéuticos en la odontología del NEEM y también su biocompatibilidad con los tejidos y esto nos lleva a que sería de gran ayuda estudiar su acción bactericida aplicándolo como irrigante en el tratamiento de conductos.

V. HIPÓTESIS

5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La experimentación planteada en este proyecto de investigación nos permitirá determinar si existe diferencia en la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 5.25% y el irrigante a base de extracto de NEEM contra *E. faecalis* y *C. albicans*.

5.2. HIPÓTESIS NULA (H0)

No existirá diferencia estadísticamente significativa en el efecto antimicrobiano entre hipoclorito de sodio al 5.25% y irrigante a base de extracto de NEEM, con un nivel de confianza del 95%.

5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1)

Existirá diferencia estadísticamente significativa en el efecto antimicrobiano entre hipoclorito de sodio al 5.25% y irrigante a base de extracto de NEEM, con un nivel de confianza del 95%.

VI. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad antimicrobiana de NEEM e hipoclorito de sodio como irrigantes intracanal contra *E. faecalis* y *C. candida* a través de estudios *in vitro*.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la inhibición antimicrobiana de las soluciones irrigantes objeto de estudio a través de ensayos de difusión en disco a 24 horas.
2. Evaluar la inhibición antimicrobiana de las soluciones irrigantes objeto de estudio a través de ensayos de microdilución a 24 horas.
3. Realizar análisis estadístico de los resultados obtenido.

VII. VARIABLES

7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Solución irrigante (Hipoclorito de sodio y solución de NEEM).

7.2. VARIABLE DEPENDIENTE

1. Halo de inhibición bacteriana (mm).
2. Absorbancia del caldo (u.a.).

7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES

La evaluación de la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio y la solución de NEEM, se llevó a cabo a través de ensayos de difusión en agar y microdiluciones frente a *E. faecalis* y *C. albicans* por 24 horas. Los halos de inhibición fueron medidos con un vernier digital y la absorbancia fue evaluada con un espectrofotómetro (GENESYS 20) a una longitud de 600 nm.

VIII. MATERIALES Y METODOS

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental.

8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana se emplearon 2 métodos, ensayos de difusión en disco y microdilución.

- *Ensayos de difusión en disco* (n = 36)

Grupo 1: Hipoclorito de sodio

Grupo 2: Solución de NEEM

Control 1: Agua estéril. (n = 6)

- *Ensayo en microdilución* (n = 16)

Grupo 1: Hipoclorito de sodio

Grupo 2: Solución de NEEM

Control 1: Caldo de cultivo estéril (n = 6)

8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL

Para la experimentación se utilizaron hojas de Neem secas pulverizadas. Se utilizó una solución de comercial de hipoclorito de sodio al 5.25% (Clorox). Para la maceración del material vegetal, se utilizó un frasco de vidrio de 1 L de boca ancha y papel filtro. Se utilizó una microbalanza analítica (Eppendorf, Alemania OHAUS Pioneer), micropipetas (Eppendorf, Alemania). Los microorganismos empleados fueron *C. albicans* (Cepa clínica dona por el Laboratorio de microbiología de la de

VIII. MATERIALES Y METODOS

la Facultad de Ciencias de la Salud Valle de las Palmas, Universidad Autónoma de Baja California) y *E. faecalis* (ATCC® 29212TM). Para ensayo de difusión en disco y microdiución medio Mueller Hinton (MDC LAB, EUA). Se utilizó un espectrofotómetro (Thermolsher Scientific-GENESYS 20). Para la incubación de las muestras se utilizó la incubadora (Blamis: IB-0E1, EUA), parrilla de agitación con temperatura (VWR 620-HPS). Adicionalmente se empleó agua destilada, placas de Petri de plástico 100 x 15 mm (SYM, México), tubos (Eppendorf), hisopos estériles, pinzas de curación, etanol al 96% (Bremer, México) y un vernier digital (Truper, Tijuana, México).

8.4. METODOLOGÍA

8.4.1. MACERACIÓN DEL NEEM

130 g de Hojas secas de Neem se trituraron en un molino (Proctor silox) Modelo 80300). Después se colocó las hojas pulverizadas de Neem en un frasco de vidrio con 50 ml de etanol al 96% (Figura 1) y se dejó macerar por 1 semana. Después de una semana, se filtró por gravedad y el líquido se evaporó a temperatura ambiente hasta obtener el extracto crudo. El tiempo de proceso total fue aproximadamente de 2 semanas.

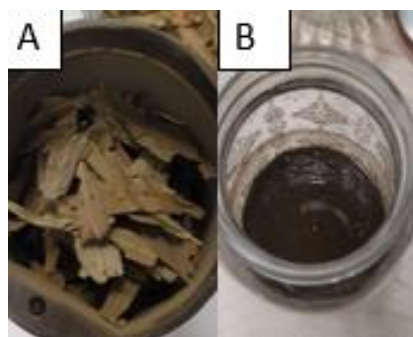


Figura 1. Preparación de NEEM

En la figura 1 se observa blalbaSe muestra (A) Hojas de NEEM secas. (B) Macerado de NEEM.

8.4.2. PRUEBA DIFUSIÓN DE DISCO

Se esterilizaron los instrumentos a utilizar con autoclave y la loseta de papel, puntas para micropipeta y el resto de los materiales con luz ultravioleta.

Se limpió la cabina de flujo con etanol al 96% y se prendió el mechero. Utilizando un marcador permanente, se realizan 6 divisiones en el agar y se rotularon las cajas de Petri. En una loseta de papel, se colocaron los sensidiscos. Después, con una micropipeta, se tomaron 2 ml de las soluciones objetos de estudio, se colocaron en una caja de Petri estéril y se sumergieron los sensidiscos hasta impregnarlos por completo con las soluciones. Se realizó una estandarización de McFarland utilizando el espectrofotómetro (Figura 2) y posteriormente se utilizando un hisopo estéril, se sumergió en los tubos de ensayo con *E. faecalis*/*C. albicans* y este se esparció en la totalidad de la caja de Petri, asegurando se cubra completamente, utilizando la técnica de estriado en cespel. Con las pinzas de curación, se toma cada uno de los sensidiscos y se colocan en el centro de cada una de las divisiones y se tapa la placa. Se repite este proceso con el hipoclorito de sodio y se realizó el mismo proceso con *C. albicans* con cada uno de los irrigantes. Todas las muestras se dejaron incubar a 37 °C por 24 horas, terminadas las 24 horas, se midieron los halos de inhibición utilizando un vernier.

VIII. MATERIALES Y METODOS



Figura 2. Espectrofotómetro (Thermo Scientific- GENESYS).

Equipo que ayuda a determinar el nivel de absorbancia de las muestras.

Para la diferenciación de *E. faecalis* se utilizó cromoagar y así poder estar seguros que esa era la cepa con la que se estaba trabajando, esta bacteria al colocarla en cromoagar se pinta de color azul (Figura 3)

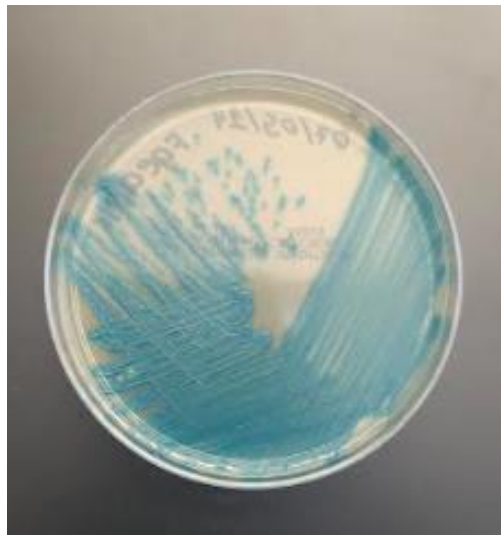


Figura 3. Cultivo de *E. faecalis* en cromoagar

Se puede observar como el *E. faecalis* se tiñe de un color azul.

8.4.3. PRUEBA DE MICRODILUCIÓN

Cuidando las condiciones de asepsia y esterilidad, se comenzó el proceso experimental que fue de la siguiente forma:

Se comenzó haciendo microdiluciones, colocando 1000 μL de medio (Mueller Hinton), 500 μL de irrigante (Hipoclorito/NEEM) y 40 μL de bacteria/hongo obtenidos del estándar de McFarland. Se utiliza un vortex para poder homogenizar el contenido de los tubos y se colocan en una rejilla, una vez teniendo todos los tubos preparados se llevan a incubar a 37 oC por 24 horas (Figura 4).

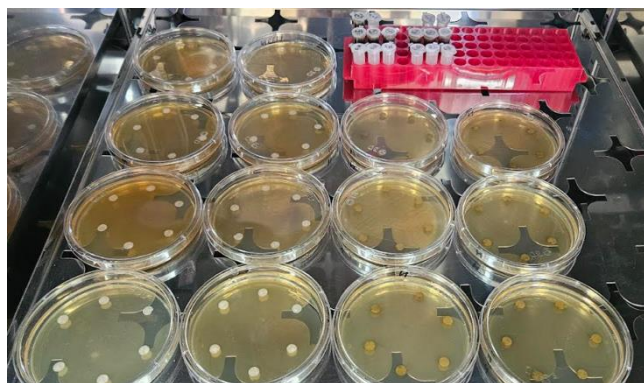


Figura 4. Tubos Eppendorf y cajas de Petri en incubadora.

Se observa: (A) Preparación de cultivo líquido Mueller Hinton (B) Tubos Eppendorf con cultivo, NEEM.

Posterior las 24 horas, se comienzan a realizar las lecturas en el espectrofotómetro obteniendo la absorbancia de cada uno de los tubos.

8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se registraron los datos, se determinaron los promedios y no fue necesario utilizar programa de análisis estadístico ya que no se obtuvieron halos de inhibición al utilizar irrigante NEEM en contra de *E. faecalis* y *C. albicans*

IX. RESULTADOS

9.1. PRUEBA DE DIFUSIÓN EN DISCO

En la experimentación se pudo observar que el hipoclorito de sodio tuvo la mejor inhibición contra *E. faecalis*, donde se observa un halo de inhibición máxima de 31 mm (Tabla 1) donde los cuales fueron medidos con un vernier digital, a lo que respecta a la *C. albicans* se tuvo nulo crecimiento en la placa de agar donde se habían colocado los discos con hipoclorito de sodio.

En lo que respecta del NEEM tanto en las plazas con *E. faecalis* y en las placas con *C. albicans* no presentó inhibición. Ya que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al NEEM frente a *E. faecalis* y *C. albicans* se realizaron las siguientes tablas y gráficas para representar los resultados obtenidos en la experimentación (Figura 5 y Figura 6).

Tabla 1. Halos de inhibición (mm) del hipoclorito de sodio vs *E. faecalis*.

Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5	Placa 6
14	18	17.5	20	0.15	31
17	25	18.5	23	16	24
17	18	18.5	20.5	17	26
21	22	16	21	21	21
26	28	14	20.5	20	27.5
20	18	14.5	23	22	28
19.1666667	21.5	16.5	21.333333	16.025	26.25

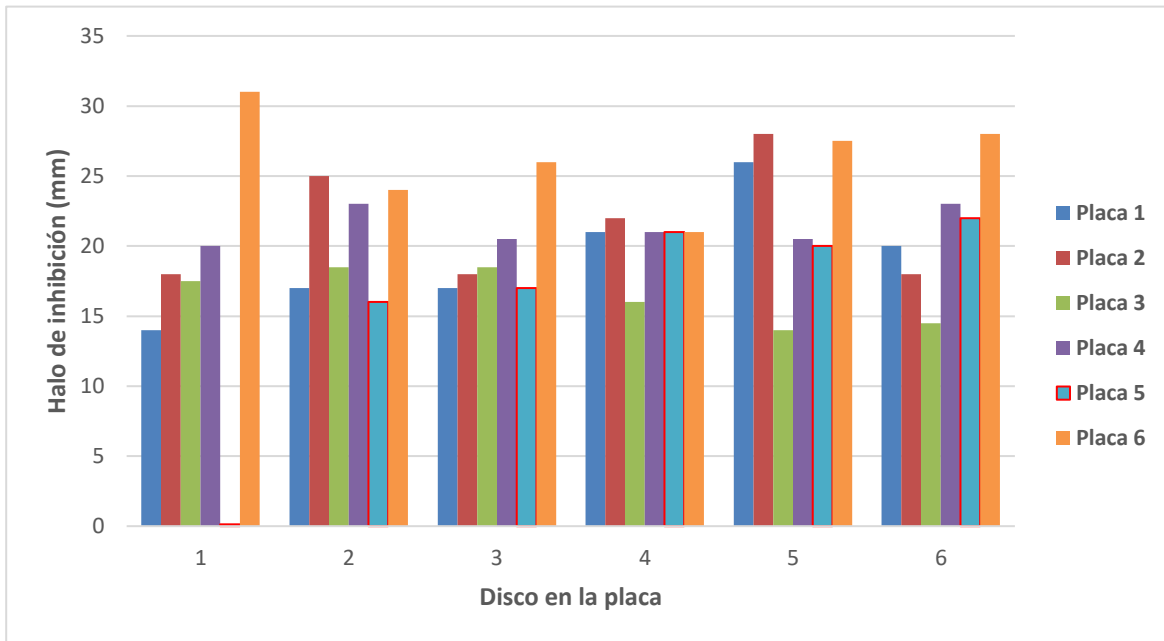


Figura 6. Grafica de halos de inhibición del hipoclorito de sodio vs *E. faecalis*.

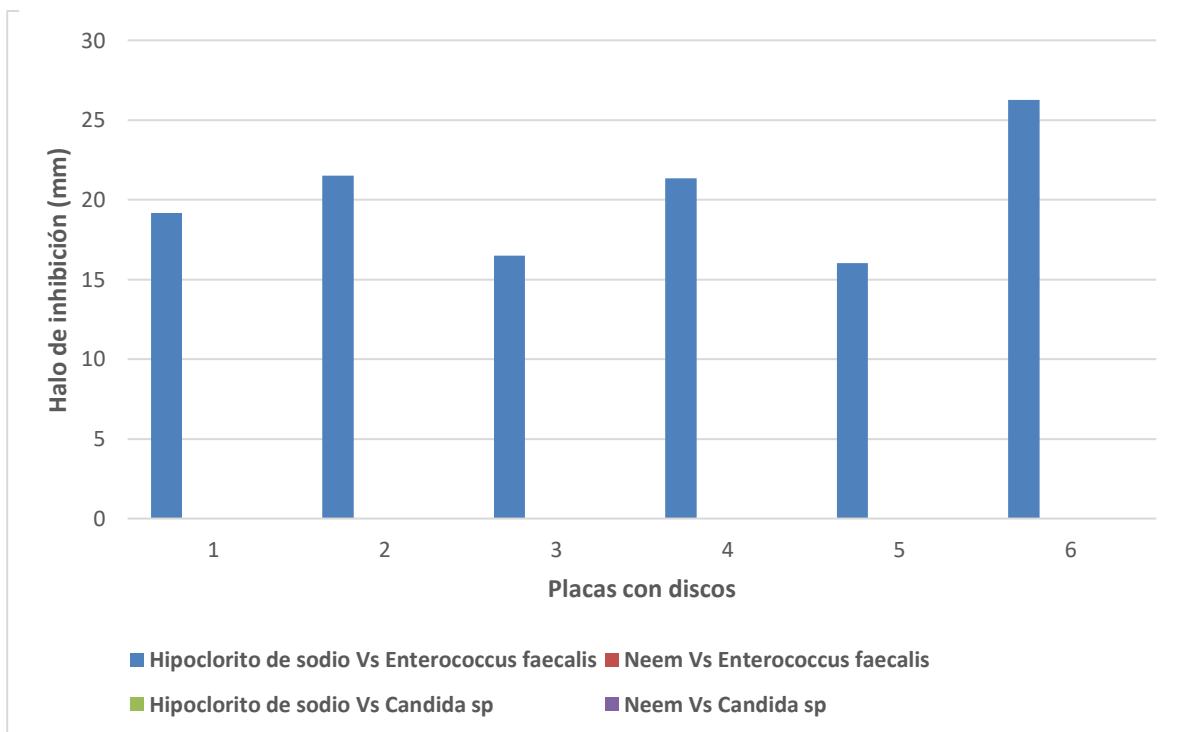


Figura 5. Gráfica de promedio de las medidas de los halos de inhibición del NEEM y el Hipoclorito de sodio vs *E. faecalis* y *C. albicans*.

E. faecalis y *C. albicans* no presentaron halos inhibitorios vs NEEM (Figura 7).

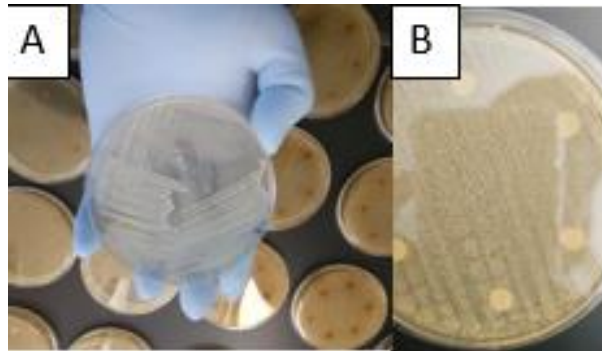


Figura 7. Resultados de difusión en disco

(A) Cultivo de *C. albicans* en cromo agar. (B) Placa de agar con discos inmersos en NEEM vs *C. albicans*.

9.2. MICRODILUCIÓN

Una vez obtenidas las mediciones en el espectrofotómetro de todas las muestras se observó que el NEEM presentó mediciones mínimas en comparación con el Hipoclorito de sodio que presento lecturas de absorbancia de 0.004 A (Figura 8 y Figura 9).

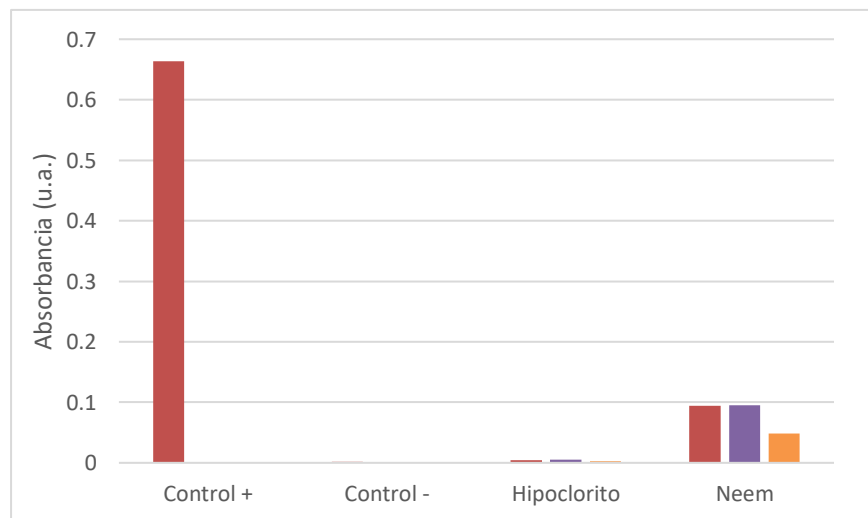


Figura 8. Gráficas de medidas de absorbancia *C. albicans*.

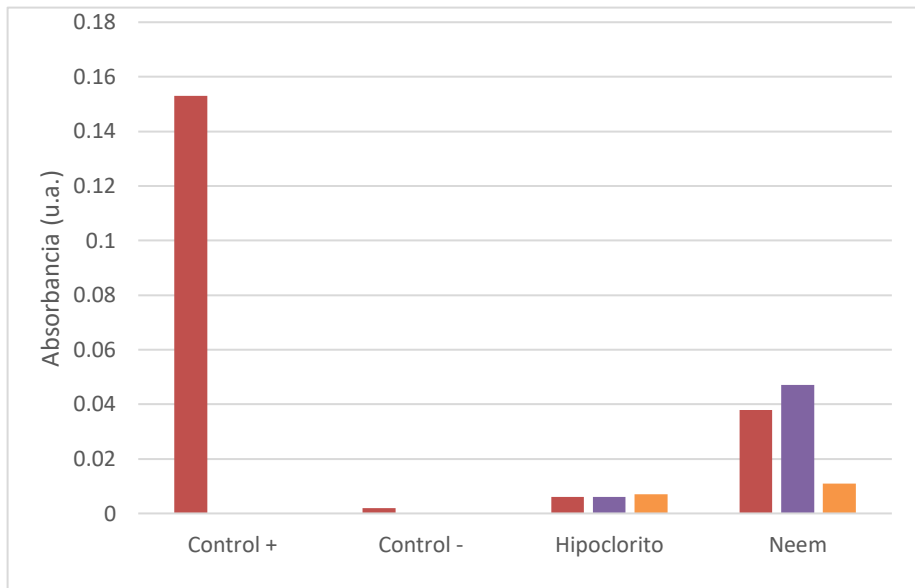


Figura 9. Gráfica de medidas de absorbancia *E. faecalis*.

X. DISCUSIÓN

El *E. faecalis* y el *C. albicans* son dos de los microorganismos que se encuentran comúnmente en órganos dentarios previamente tratados con infección secundaria (24). El hipoclorito de sodio es el irrigante de elección en los tratamientos de conductos desde hace muchos años por su gran actividad antimicrobiana, sin embargo, sus efectos dañinos al estar en contacto con tejido periapical han llevado a la búsqueda de otras alternativas (24,29,30).

En los estudios publicados por Ghonmode y *et al.* en el 2013, Bhargava y *et al.* en el 2015 y Hegde y *et al.* en el 2015, se puede observar que, al realizar la metodología de difusión en agar, se realizan perforaciones en el medio de cultivo y ahí colocaron los irrigantes. Aquí la desventaja es que, cuando se trata de evaluar una sustancia líquida, existe la posibilidad de que este escurra al trasladarlo y esto puede que arroje resultados erróneos. Para corregir esto, en este estudio se colocaron los irrigantes en sensidiscos para asegurar así que el líquido no escurra en el medio de cultivo y haga un contacto uniforme (31)

Solo en el estudio realizado por Daga y cols. en el 2017, se observa que hay una diferencia muy significativa entre los irrigantes, siendo el Hipoclorito el que presenta mayor efecto antibacteriano. Sin embargo, la maceración del Neem se hace solo de 1 a 2 min, el cual es muy poco tiempo para obtener un extracto concentrado, dando un efecto antimicrobiano muy bajo. Por esta razón, en este estudio se dejó macerar el Neem por 2 semanas, para así obtener un extracto más concentrado (29).

En el presente estudio, hubo una diferencia significativa entre el Neem y el Hipoclorito de sodio frente a *C. albicans*. Este resultado difiere de un estudio realizado por Raghavendra y cols. en el 2014, que ellos determinaron que no hubo diferencia significativa en el efecto antimicrobiano de los dos irrigantes frente a *E. faecalis*. Esto puede ser debido a que en su estudio utilizaron Hipoclorito de sodio al 3%, que tiene menor efecto antimicrobiano que al 5.25% (30).

X. DISCUSIÓN

En la prueba de CMI en este estudio, se observa que el Neem tiene un efecto antimicrobiano en hasta la dilución de 1:128. Su mejor efecto antimicrobiano es cuando está más concentrado. Pero aun cuando está más diluido, presenta cierto efecto antimicrobiano. Mientras que el Hipoclorito de sodio tiene efecto antimicrobiano en todas las diluciones. Estos resultados al compararlos con el estudio de Joy Sinha y *et al.* en el 2017, podemos observar que el CMI del Neem si concuerda con el estudio presente. Sin embargo, el CMI del Hipoclorito de sodio en su estudio fue 1:64, mientras que en este estudio fue 1:256. Este resultado se puede deber a dos factores: 1) Por el tiempo de maceración del Neem (solo fue de 1 a 2 min); 2) Algún error al momento de realizar la evaluación de la turbidez del líquido. En su estudio, ellos utilizaron una evaluación visual, pero es mejor complementar con la lectura de la densidad óptica para obtener resultados más exactos (31).

Los resultados del estudio presente no concuerdan con los realizados por los autores anteriormente mencionados ya que se observó nula inhibición en cuanto al NEEM contra *E. faecalis* y *C. albicans* comparándolo con el Hipoclorito de sodio donde presento halos de inhibición significativos. Todo esto se corrobora con un segundo estudio que fue la microdilución donde se pudo confirmar que el NEEM no presenta alguna actividad antimicrobiana en contra de las cepas ya mencionadas, es necesario realizar estudios más detallados del NEEM y ver si en realidad pueda existir algún resultado significativo para poderlo utilizar como irrigante intraconductos.

XI. CONCLUSIONES

Este estudio *in vitro*, pretende valorar las propiedades antibacterianas del NEEM, como uso alternativo como agente irrigante en comparación con el Hipoclorito de sodio, el cual es considerado como el Gold standard para la desinfección durante el tratamiento de conductos radiculares.

El hallazgo significativo de este estudio fue que, durante las pruebas de difusión de disco y microdilución, el NEEM reflejó nulas propiedades antibacterianas en contra del *E. faecalis* y la *C. albicans*, al observar un crecimiento bacteriano y fúngico; mientras que en las muestras de Hipoclorito de sodio existieron halos inhibitorios de gran tamaño en contra del *E. faecalis* y nulo crecimiento de *C. albicans*.

Con base a los resultados se confirma la hipótesis alternativa (H1) de este proyecto de investigación.

XII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda evaluar la actividad antimicrobiana del extracto de NEEM empleando diferentes concentraciones.
2. Se recomienda utilizar diferentes solventes para realizar la maceración del NEEM.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Ciencias Médicas Dr Serafín Ruiz De Zárate Ruiz U DE, Toledo Reyes L, Alfonso Carrazana M, Barreto Fiú E. Evolución del tratamiento endodóntico y factores asociados al fracaso de la terapia. 2016.
2. Cohen S, Hargreaves K. Vías de la pulpa. Elsevier Science; 2011.
3. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Odontología. E, Burguera E, Carvallo M. Acta odontológica venezolana. [Internet]. Vol. 41, Acta Odontológica Venezolana. Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela; 2003 [citado el 10 de junio de 2024]. 159–165 p. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652003000200011&lng=es&nrm=iso&tlng=es
4. Soares_and_Goldberg_ENDODONCIA_TECNICA_Y.
5. Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas (Cuba) E, LaO Salas NO, Castellanos Coloma I, Marzo Santiago R, Santiago Dager E, LaO Salas NO, et al. Medisan. [Internet]. Vol. 25, MEDISAN. Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas; 2021 [citado el 10 de junio de 2024]. 470–488 p. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192021000200470&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. Romero A. Manejo clínico endodóntico de un Dens Invaginatus tipo II. [México]: UNAM; 2017.
7. Canalda C, Brau A. Endodoncia: técnicas clínicas y bases científicas. Barcelona, España: Elsevier; 2014.
8. Orihuela D. Manejo clínico y pronóstico de la infección endodóntica primaria y secundaria. [México]: UNAM; 2017.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

9. Angulo Quiñónez LF, Montesdeoca Suárez CA, Mejía Gallegos CG, Zurita Blacio SM. Procesos infecciosos periodontales de origen endodóntico. RECIMUNDO. el 23 de febrero de 2023;7(1):63–70.
10. Kumar J, Sharma R, Sharma M, Prabhavathi V, Paul J, Deepak Chowdary C. Presence of *Candida albicans* in root canals of teeth ... Kumar J et al Original Research Presence of *Candida albicans* in Root Canals of Teeth with Apical Periodontitis and Evaluation of their Possible Role in Failure of Endodontic Treatment. Vol. 7, Journal of International Oral Health. 2015.
11. Furzan S, Jiménez L. Prevalencia de patologías periapicales en pacientes atendidos en el postgrado de endodoncia. Universidad de Carabobo. Período 2010-2013. 2016.
12. Minty M, Lê S, Canceill T, Thomas C, Azalbert V, Loubieres P, et al. Low-Diversity Microbiota in Apical Periodontitis and High Blood Pressure Are Signatures of the Severity of Apical Lesions in Humans. Int J Mol Sci. el 13 de enero de 2023;24(2):1589.
13. Antonio A, Alzamora O. MICROBIOLOGÍA ENDODÓNTICA ENDODONTIC MICROBIOLOGY REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.
14. Zambrano de la Peña S, Salcedo-Moncada D, Petkova- Gueorguieva M, Ventocilla Huasupoma M. Biofilm en Endodoncia: una revisión. Odontología Sanmarquina. el 29 de enero de 2017;19(2):45.
15. Antonio A, Alzamora O. MICROBIOLOGÍA ENDODÓNTICA ENDODONTIC MICROBIOLOGY REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.
16. Miliani R, Lobo K, Morales O. ACTA BIOCLINICA Revision R. Miliani y col. 2012;
17. Ben-xiang Hou -. Microbial diversity in failed endodontic root-filled teeth. National Library of Medicine. marzo de 2012;

XIII. BIBLIOGRAFÍA

18. SIQUEIRAJR J, ROCAS I, FAVIERI A, LIMA K. Chemomechanical Reduction of the Bacterial Population in the Root Canal after Instrumentation and Irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% Sodium Hypochlorite. *J Endod.* junio de 2000;26(6):331–4.
19. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in Endodontics. *Dent Clin North Am.* abril de 2010;54(2):291–312.
20. Reyes Salazar NN, Sánchez Ormeño JG, Salas Izquierdo ME, Salvatierra Paucar AA, Diaz Iturrizaga ND, Ramos Perfecto D. Enterococcus faecalis: patogeno de relevancia clinica en tratamiento endodonticos fallidos. *Kiru* [Internet]. el 30 de septiembre de 2020;17(3):169–74. Disponible en: <https://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/view/1988>
21. Svensäter G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Topics.* el 19 de noviembre de 2004;9(1):27–36.
22. Farook SA, Shah V, Lenouvel D, Sheikh O, Sadiq Z, Cascarini L. Guidelines for management of sodium hypochlorite extrusion injuries. *Br Dent J.* el 19 de diciembre de 2014;217(12):679–84.
23. Daga P, Asrani H, Farista S, Mishra P. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Neem, Miswak, Propolis, and Sodium Hypochlorite against Enterococcus faecalis using EndoVac. *International Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry.* junio de 2017;7(2):60–5.
24. Daga P, Asrani H, Farista S, Mishra P. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Neem, Miswak, Propolis, and Sodium Hypochlorite against Enterococcus faecalis using EndoVac. *International Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry.* junio de 2017;7(2):60–5.
25. Balaji K, Shivaji K. Medicinal uses of neem (*Azadirachta indica*) in human life : A Review. 2018;

XIII. BIBLIOGRAFÍA

26. Parida MM, Upadhyay C, Pandya G, Jana AM. Inhibitory potential of neem (*Azadirachta indica* Juss) leaves on Dengue virus type-2 replication. *J Ethnopharmacol.* febrero de 2002;79(2):273–8.
27. Piojan M. Usos terapéuticos. 2004.
28. Raghavendra SS, Dattatray Balsaraf K. Antifungal efficacy of *Azadirachta indica* (neem)-An in vitro study. Vol. 13.
29. Dutta A, Kundabala M. Antimicrobial efficacy of endodontic irrigants from *Azadirachta indica*: An in vitro study. *Acta Odontol Scand.* noviembre de 2013;71(6):1594–8.
30. Singh H, Kaur M, Dhillon JS, Batra M, Khurana J. Neem: a magical herb in endodontics. *Stomatological Disease and Science.* el 29 de junio de 2017;1(2).
31. Ghonmode WN, Balsaraf OD, Tambe VH, Saujanya KP, Patil AK, Kakde DD. Antimicrobial efficiency of herbal alternatives & 3% sodium...Ghonmode WN et al ORIGINAL RESEARCH Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extracts, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *E. feacalis*-An in vitro study. Vol. 5, *Journal of International Oral Health.*