

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO
ANTIMICROBIANO DE UNA ALTERNATIVA HERBOLARIA A BASE DE TÉ
VERDE Y DEL HIPOCLORITO DE SODIO, CONTRA *ESCHERICHIA COLI* Y
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

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

PRESENTA
C.D. HELENA HERMOSILLO PADILLA

PRESIDENTE
(DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES HOFMANN SALCEDO

SINODAL
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)

DRA. ANA GABRIELA CARILLO VÁRGUEZ

SINODAL
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)

DR. ESTEBAN HERNÁNDEZ GUEVARA

SINODAL
(CO-DIRECTO DEL PROYECTO)

MCS VÍCTOR ALFREDO REYES VILLEGAS

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
“2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista”

Tijuana, Baja California a, 26 de mayo de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE UNA ALTERNATIVA HERBOLARIA A BASE DE TÉ VERDE Y DEL HIPOCLORITO DE SODIO, CONTRA *ESCHERICHIA COLI* Y *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.**

Propuesto por la C.D. HELENA HERMOSILLO PADILLA, 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 ELENA DE LOS ÁNGELES HOFMANN SALCEDO
PRESIDENTE

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA
“2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista”**

Tijuana, Baja California a, 26 de mayo de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE UNA ALTERNATIVA HERBOLARIA A BASE DE TÉ VERDE Y DEL HIPOCLORITO DE SODIO, CONTRA *ESCHERICHIA COLI* Y *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.**

Propuesto por la C.D. HELENA HERMOSILLO PADILLA, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

**ATENTAMENTE
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**



**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ
SINODAL**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
“2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista”

Tijuana, Baja California a, 26 de mayo de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE UNA ALTERNATIVA HERBOLARIA A BASE DE TÉ VERDE Y DEL HIPOCLORITO DE SODIO, CONTRA *ESCHERICHIA COLI* Y *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.**

Propuesto por la C.D. HELENA HERMOSILLO PADILLA, 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”



DR. ESTEBAN HERNÁNDEZ GUEVARA
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
“2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista”

Tijuana, Baja California a, 26 de mayo de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE UNA ALTERNATIVA HERBOLARIA A BASE DE TÉ VERDE Y DEL HIPOCLORITO DE SODIO, CONTRA *ESCHERICHIA COLI* Y *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.**

Propuesto por la C.D. HELENA HERMOSILLO PADILLA, 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”


MCS VÍCTOR ALFREDO REYES VILLEGAS
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO
DE UNA ALTERNATIVA HERBOLARIA A BASE DE TÉ VERDE Y DEL
HIPOCLORITO DE SODIO, CONTRA *ESCHERICHIA COLI* Y
ENTEROCOCCUS FAECALIS.**

PRESENTA



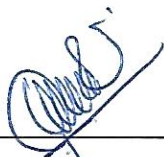
C.D. HELENA HERMOSILLO PADILLA

**PRESIDENTE
(DIRECTORA DEL PROYECTO)**



DRA. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES HOFMANN SALCEDO

**SINODALES
(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)**



DRA. ANA GABRIELA CARILLO
VÁRGUEZ



DR. ESTEBAN HERNÁNDEZ GUEVARA



MCS VÍCTOR ALFREDO REYES VILLEGAS

Tijuana, Baja California, junio de 2023

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez, coordinadora del programa de la especialidad por haberme permitido ingresar al programa, por todo su apoyo brindado y sus enseñanzas a lo largo de este tiempo.

Un agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. María Elena de los Ángeles Hofmann Salcedo, por todo su valioso tiempo, atenciones y enseñanzas para culminar con el objetivo.

A mi co-director de tesis el Dr. Esteban Hernández Guevara, por tener total disposición en compartirme sus conocimientos, capacidad y experiencia científica que me brindó para el desarrollo de este proyecto.

Al M.C.S. Víctor Alfredo Reyes Villegas por su atención, conocimientos y confianza que compartió para poder lograr el objetivo deseado a lo largo de esta investigación.

A mis compañeros por la amistad, confianza y enseñanza que nos brindamos para culminar con gran éxito esta maravillosa etapa profesional.

Agradecimiento especial a cada uno de mis familiares y amigos que han estado hasta el momento en esta etapa de mi vida brindándome sus palabras de apoyo y recibíendome con los brazos abiertos en cada llegada a casa, en especial a mis hermanos Enrique y Sarai, a mis papas Luis Enrique y a mi angelita llena de Esperanza por ser mis pilares y mis guías en este camino, con todo mi cariño y amor para ustedes, lo logramos.

CONTENIDO**CAPÍTULOS DE TESIS**

AGRADECIMIENTOS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	14
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
2.1. HISTORIA DE LA ENDODONCIA.....	2
2.1.1 TRIADA ENDODÓNTICA.....	2
2.2. IRRIGACIÓN.....	3
2.3. MICROBIOLOGÍA DEL CONDUCTO RADICULAR.....	3
2.3.1 BIOFILM.....	4
2.3.2. INFECCIONES ENDODÓNTICAS.....	5
2.3.3 BACTERIAS DEL CONDUCTO RADICULAR.....	6
2.3.4 <i>Escherichia coli</i>	11
2.3.5 <i>Enterococcus faecalis</i>	13
2.4 RESISTENCIA BACTERIANA.....	16
2.5 SOLUCIONES IRRIGANTES.....	20
2.5.1 HIPOCLORITO DE SODIO.....	22

CONTENIDO

2.5.2 ALTERNATIVA HERBOLARIA.....	26
2.6 ANTECEDENTES DE ALTERNATIVAS HERBOLARIAS.....	29
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
IV. JUSTIFICACIÓN.....	32
V. HIPÓTESIS.....	33
5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	33
5.2. HIPÓTESIS NULA.....	33
5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA.....	33
VI. OBJETIVOS.....	34
6.1. OBJETIVO GENERAL	34
6.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
VII. VARIABLES.....	35
7.1. VARIABLES INDEPENDIENTE (VI):.....	35
7.2. VARIABLE DEPENDIENTE (VD):.....	35
7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES.....	35
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
8.1. TIPO DE ESTUDIO	36
8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO.....	36
8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL	36

CONTENIDO

8.4. METODOLOGÍA.....	37
8.4.1. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO.....	37
8.4.2. PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE HIPOCLORITO DE SODIO	40
8.4.3. PREPARACIÓN DEL INOCULO	41
8.4.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBIDORA (MIC).....	41
8.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44
IX RESULTADOS.....	45
9.1. LECTURA DE LA ABSORBANCIA EN ESPECTROSCOPIA UV-VIS	45
9.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
X. DISCUSIÓN.....	48
XII. RECOMENDACIONES.....	52
XIII. BIBLIOGRAFÍA.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1, ESTRUCTURA DE LAS MICROCOLONIAS EN UN BIOFILM MADURO (6).
 4

FIGURA 2 BIOPELÍCULA ESPECIFICA DE LEUCONOSTOC SPP Y
 BIOFIDOBACTERIUM SPP (6)..... 7

FIGURA 3, IMÁGENES SEM DE CONDUCTOS RADICULARES INFECTADOS EN EL
 CONDUCTO RADICULAR (A) Y TÚBULOS DENTINARIOS (B) (9)..... 8

FIGURA 4 IMAGEN DE MICROSCOPIA DE BARRIDO LASER CONFOCAL (CLSM)
 (CORTE ÚNICO CON UN AUMENTO DE 20X) DE UN BIOFILM DE
 ENTEROCOCCUS FAECALIS DE UNA SEMANA DE DURACIÓN DENTRO DEL
 CONDUCTO RADICULAR (6). 8

FIGURA 5, PIRÁMIDE DE SOCRANSCKY (9) 10

FIGURA 6 CÉLULA BACTERIANA Y SUS COMPONENTES ESTRUCTURALES QUE
 PUEDEN ACTUAR COMO FACTORES DE VIRULENCIA. 11

FIGURA 7 MICROGRAFÍAS ELECTRÓNICAS DE BARRIDO QUE MUESTRAN
 CEPAS DE MICROORGANISMOS (PSEUDOMONAS AERUGINOSA, E. COLI Y
 STAPHYLOCOCCUS SPP.) (23)..... 12

FIGURA 8, IMAGEN SEM DE LA PARED DEL CONDUCTO DE UN PREMOLAR
 HUMANO MONOINFECTADO CON E. FAECALIS (7). 15

FIGURA 9 MICROGRAFÍAS ELECTRÓNICAS DE BARRIDO REPRESENTATIVAS DE
 E. FAECALIS (22)..... 16

FIGURA 10 COMPARACIÓN DE IMÁGENES ESEM (MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO AMBIENTAL) Y SEM (MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO) (12).....	17
FIGURA 11 DIENTES NECRÓTICOS DE UNA PERIODONTITIS APICAL INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE EN UN MODELO ANIMAL (23).....	18
FIGURA 12 ANATOMÍA DEL CONDUCTO RADICULAR (23).....	19
FIGURA 13 ACCIDENTE POR HIPOCLORITO DE SODIO (30).....	25
FIGURA 14 IMÁGENES MICROSCÓPICAS REPRESENTATIVAS DE LA REACCIÓN DEL TEJIDO SUBCUTÁNEO DE LOS RATONES (29).....	27
FIGURA 15 FOTOMICROGRAFÍAS REPRESENTATIVAS DE LAS REGIONES APICALES Y PERIAPICAL DE PERROS (35).....	28
FIGURA 16 ZONAS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE DE ÁRBOL DE TÉ, NISINA, HIDRÓXIDO DE CALCIO Y SOLUCIÓN SALINA NORMAL CONTRA E. FAECALIS (39).....	30
IMAGEN 1, RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.....	37
IMAGEN 2, OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO.....	38
IMAGEN 3, FILTRACIÓN DE EXTRACTO DE TÉ VERDE.....	38
IMAGEN 4, PROCESO DE DESTILACIÓN.....	39
IMAGEN 5, EXTRACTO DE TÉ VERDE.....	39
IMAGEN 6, HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

IMAGEN 7, HIPOCLORITO DE SODIO AL 2.5%	40
IMAGEN 8, MATERIAL EN CAMPANA DE FLUJO LAMINAR	42
IMAGEN 9, ESQUEMA REPRESENTATIVO.....	42
IMAGEN 10, INCUBACIÓN DE LAS MUESTRAS	43
IMAGEN 11, MUESTRA DEL PRECIPITADO	43
IMAGEN 12, COLOCACIÓN DE LA MUESTRA EN MICROPLACA DE 96 POZOS	44
TABLA 1, RESULTADOS DE LAS LECTURAS DE ESPECTROS DE ABSORBANCIA DE LAS MICRODILUCIONES.....	46
GRAFICA 1, COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

AAE	Asociación Americana de Endodoncia
ADNe	ADN extracelular
ANOVA	Análisis estadístico de varianza
CLSM	Microscopia de barrido laser confocal (por sus siglas en ingles)
CM	Membrana citoplasmática
DMSO	Dimetilsulfóxido
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EGCG	Epigallocatequina-3-galato (por sus siglas en ingles)
ESEM	Microscopia electrónica de barrido ambiental (por sus siglas en ingles)
GTP	Polifenoles de té verde (por sus siglas en ingles)
IAAS	Infección asociada a la atención en la salud
LPS	Lipopolisacáridos
LPtn	Lipoproteína
LTA	Ácido lipoteicoico
NaOCl	Hipoclorito de sodio (por su fórmula química)
OM	Membrana externa
OMP	Proteína de peptidoglicano (por sus siglas en ingles)
PGE2	Prostaglandina E2
SEM	Microscopia electrónica de barrido (por sus siglas en ingles)

I. RESUMEN

Introducción: La investigación y la experiencia clínica han demostrado que el hipoclorito de sodio (NaOCl) tiene varias propiedades que contribuyen a un desbridamiento quimio-mecánico eficaz de un sistema de conductos. Sin embargo, debido a las grandes desventajas del mismo, el aumento de las cepas resistentes a los antibióticos y los efectos secundarios causados por los medicamentos sintéticos han impulsado a los investigadores a buscar alternativas a base de plantas, tal es el caso del té verde. Este deriva de la planta, *Camellia sinensis* y ha sido ampliamente estudiada por sus efectos positivos sobre la salud, específicamente bucodental. Este efecto se les atribuye debido a sus propiedades como antioxidante, antiinflamatorio, anticancerígeno, antihipertensivo y regenerativa, las cuales se asocian principalmente a su contenido de polifenoles.

Objetivo: Evaluar el efecto antimicrobiano de un extracto de Té verde contra *E. coli* y *E. faecalis* de manera *in vitro* y comparar su actividad contra NaOCl (5.25 y 2.5%) para considerarlo como una alternativa para un irrigante herbolario. **Materiales y métodos:** Se realiza un extracto alcohólico de las hojas de té verde (*Camellia sinensis*), de manera resumida, el tiempo de contacto fue de 24 h, los restos solidos se separaron por filtración, se removió el alcohol por destilación y un segundo filtrado, en tubos eppendorf de 1.5 mL, se colocó 1 mL de medio de cultivo Muller Hinton con 1 μ L a 0.5 McFarland de bacteria y una serie de concentración crecientes de extracto. Se utilizaron como controles positivos 5.25 y 2.5% de NaOCl. Pasado el periodo de incubación (72 h) se cuantifico el crecimiento bacteriano por espectroscopia UV-Vis midiendo la absorbancia a 620 nm. El análisis estadístico para detectar diferencias fue por medio de un Análisis de Varianza (ANOVA) bidireccional. **Resultados:** Se encontró que hay una diferencia significativa entre el extracto del té verde a una concentración > 80% y el NaOCl al 2.5%. Así mismo, se detectó mayor eficacia para *E. coli* por debajo de 2% y para *E. faecalis* es efectivo a la menor concentración probada 40%. No se observó diferencia significativa entre los controles a 5.25 y 2.5% de NaOCl. **Conclusión:** Con una $p < 0.05$ se concluye que el extracto de té verde tiene actividad bactericida contra *E. coli* y *E. faecalis* y pudiera remplazar el uso de NaOCl 2.5%. Se requiere de más estudios para poder asegurar que el extracto de té verde preparado puede sustituir el uso de NaOCl al 5.25%.

II. INTRODUCCIÓN

2.1. HISTORIA DE LA ENDODONCIA

La Asociación Americana de Endodoncia (AAE), reconoce a la especialidad como tal en el año de 1963; la cual la define como la rama de la odontología que se ocupa de la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares, así como abarcar las prácticas de las ciencias básicas y clínica incluyendo la biología de la pulpa, etiología, diagnóstico, prevención y el tratamiento de las enfermedades y lesiones de la pulpa y las condiciones perirradiculares asociadas (1).

El especialista en endodoncia es responsable del avance del conocimiento endodóntico mediante la investigación, la transmisión de información sobre los avances más recientes en procedimientos y materiales biológicamente aceptables, así como la educación hacia al público en cuanto a la importancia de mantener la dentición en un estado fisiológicamente funcional para el mantenimiento de la salud oral y sistémica (1).

2.1.1 TRIADA ENDODÓNTICA

El tratamiento endodóntico se compone de un conjunto de factores que generalmente incluyen tres pasos: instrumentación, irrigación y obturación; sin embargo la referencia bibliográfica nos muestra cuatro pasos, en los cuales se puede incluir la medicación (2). En las infecciones endodónticas el objetivo es disminuir el número de células bacterianas y sus productos del conducto radicular (Debris/Biofilm) y así evitar que nuevos microorganismos lleguen a la región periapical, promoviendo así las condiciones ideales para la curación. Por lo tanto, es importante eliminar las bacterias, tejidos necróticos y restos de la capa de barrillo dentinario que se generan durante la

preparación mecánica, en donde son algunos de los desafíos que se enfrentan durante el tratamiento de endodóntico (3).

2.2. IRRIGACIÓN.

En cuanto a la irrigación del conducto radicular, este juega un papel importante en el desbridamiento y desinfección del sistema de conductos radiculares y es una parte integral de los procedimientos de preparación del conducto radicular (4). En consecuencia, la acción adecuada de cualquier solución irrigante utilizada en todos estos factores considerados puede culminar en una predicción de éxito y longevidad del tratamiento (3). Esto es fundamental por las principales causas de fracaso de la endodoncia que son los microorganismos restantes o la recolonización dentro del conducto radicular y los tejidos perirradiculares (2).

2.3. MICROBIOLOGÍA DEL CONDUCTO RADICULAR.

La microbiota de las infecciones del conducto radicular está muy diversificada, e incluyen microorganismos aerobios grampositivos, gramnegativos y principalmente anaerobios, se colonizan y se agrupan creando una biopelícula (5). Una biopelícula es una estructura altamente organizada formada por células bacterianas encerradas en una matriz polimérica extracelular autoproducida adherida a una superficie. Las biopelículas también pueden considerarse como una capa de condensación de microbiota o una comunidad derivada de microbios que consiste en células que están irreversiblemente en un sustrato o a una interfaz, entre sí, e incrustadas en una matriz de polisacáridos extracelulares, además de ADN extracelular (ADNe) y proteínas extracelulares (6).

2.3.1 BIOFILM.

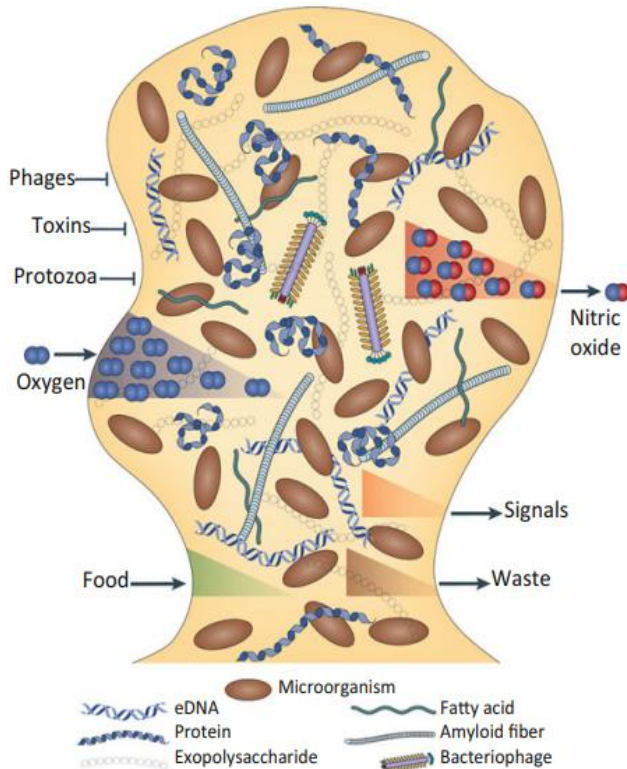


Figura 1, Estructura de las microcolonias en un Biofilm maduro (6).

Las microcolonias en la biopelícula se caracteriza por una matriz de EPS (Sustancias exopoliméricas), compuesta por agua, ADNe, polisacáridos y proteínas, entre otros compuestos. La matriz de EPS funciona como un escudo para proteger a la comunidad bacteriana o población bacteriana de depredadores como los protozoos o los fagos líticos, así como de las toxinas química (p. ej., biocinas y antibióticos). La matriz de PS puede ayudar a secuestrar nutrientes y, junto con los microorganismos subyacentes, también es responsable del establecimiento de gradientes (por ejemplo, oxígeno y nutrientes hacia el interior y los productos de desecho, así como señales como el óxido nítrico, hacia el exterior

En general, la composición exacta varía según los microorganismos y de los nutrientes disponibles y en cuanto a los organismos del Biofilm muestran un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción de genes (Figura 1). Las células bacterianas sésiles (estado de Biofilm) difieren en gran medida de las células bacterianas que flotan libremente (estado planctónico). Las propiedades fisiológicas de las bacterias en las biopelículas fisiológicas de las bacterias en las biopelículas son diferentes en comparación con la misma bacteria en un medio de cultivo, en parte porque los microorganismos de las biopelículas están protegidos en un medio ambiente gracias a su matriz (6).

En general el objetivo de cualquier estrategia de desinfección en la atención sanitaria es reducir la carga bacteriana a un nivel subcrítico para que las respuestas inmunitarias del paciente permitan la curación; en cuanto al tratamiento de conducto radicular no difiere de dicho objetivo, ya que la desinfección del conducto radicular se considera el eje de esta terapia y se ha centrado en el desarrollo de métodos que puedan eliminar completamente el Biofilm bacteriano (6).

2.3.2. INFECCIONES ENDODÓNTICAS.

Las infecciones endodónticas se dividen en 2 categorías: infección primaria, resultante de la invasión y colonización del tejido pulpar necrótico por microorganismos, y la infección secundaria, causada por la persistencia de bacterias en el sistema de conductos radiculares tratados endodónticamente, ya sea por una infección remanente o persistente (7).

A medida que la enfermedad pulpar progresa, la ecología dentro del sistema del conducto radicular cambia, dichos cambios pueden estar relacionados con la tensión de oxígeno cuando se realiza el acceso del conducto radicular durante el tratamiento, el uso de agentes de irrigantes y los cambios de pH que se generan debido a diversos materiales introducidos en el conducto radicular, esto da lugar a cambios fenotípicos de la población de los microorganismos (6). La infección del espacio del conducto radicular se produce con mayor frecuencia como secuela de una lesión cariada profunda, grietas en la estructura de la corona que se extiende a la cámara pulpar también pueden ser causas de infección endodóntica e independientemente de la vía de entrada microbiana, debe diferenciarse entre casos vitales y no vitales (8).

A medida que la defensa del huésped pierda acceso al espacio pulpar necrótico, los microorganismos oportunistas seleccionados por las duras condiciones ecológicas y el entorno de bajo oxígeno se acumulan en el sistema de conductos radiculares. Estas comunidades microbianas pueden sobrevivir en el tejido pulpar orgánico y el exudado del periodonto. En consecuencia, los grupos de microorganismos en los dientes necróticos y en los dientes con tratamientos se encuentran en la zona apical del conducto radicular, donde tienen acceso al líquido tisular. En las infecciones de larga duración, pueden invadir a la dentina adyacente a través de los túbulos dentinarios abiertos (8).

2.3.3 BACTERIAS DEL CONDUCTO RADICULAR.

Las infecciones endodónticas primarias son polimicrobianas, predominando *Bacteroides*, *Prophyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* y *Camphylobacter*. Se cree que la persistencia de microorganismos dentro del sistema de conductos radiculares después del tratamiento es la causa principal del fracaso del tratamiento de conductos. La flora microbiana que se encuentra en las infecciones secundarias, por lo general, es capaz de sobrevivir a condiciones duras como un amplio pH y a condiciones limitadas de nutrientes, predominando bacterias grampositivas tales como; *Enterococos*, *Lactobacilos*, *Actinomyces* y hongos (por ejemplo; *Cándida albicans*). La figura 2 (A y B) presenta algunas biopelículas multiespecíficas del foramen apical de los conductos radiculares mostrando canales de comunicación, fusión de fibras extracelulares, polímeros extracelulares compactos y su red (6). En la figura 3 se observa las imágenes de un microscopio electrónico de barrido (SEM) de conductos radiculares infectados, muestra

grupos de *Streptococcus faecalis* en la pared del conducto radicular (A) y bacterias penetradas en los túbulos dentinarios (B) (9)

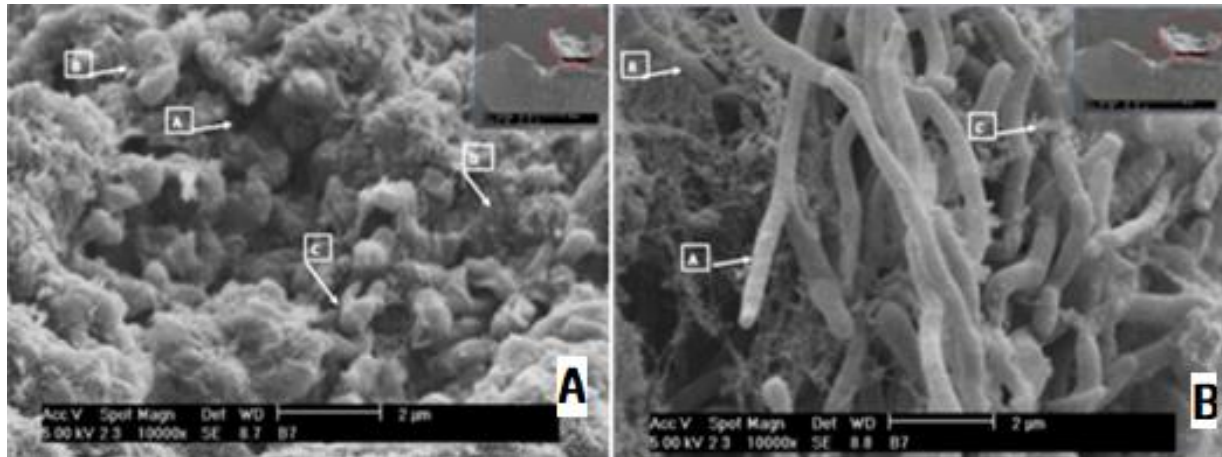


Figura 2 Biopelícula específica de *Leuconostoc* spp y *Biofidobacterium* spp (6).

*Imágenes de microscopía electrónica de barrido de la parte apical del foramen de un diente mostrando una biopelícula madura (1) *Leuconostoc* spp. (10.000x). se observa una matriz polimérica multicapa evidente. También se observa canales de comunicación en la biopelícula (a), fibras extracelulares secretadas por células bacterianas (b), células metabólicamente activas caracterizadas por la división celular (c) y polímeros extracelulares (d); (2) *Biofidobacterium* spp. (10.000x) en estado de maduración. Secreción de polímeros en forma granular por células bacterianas (a), microfilamentos de polímeros extracelulares que rodean la forma de varilla de microorganismos (b) y polímeros extracelulares en estado de maduración (c). (Cortesía; Dra. Ana María González Amaro, María Verónica Méndez González UASLP México).*

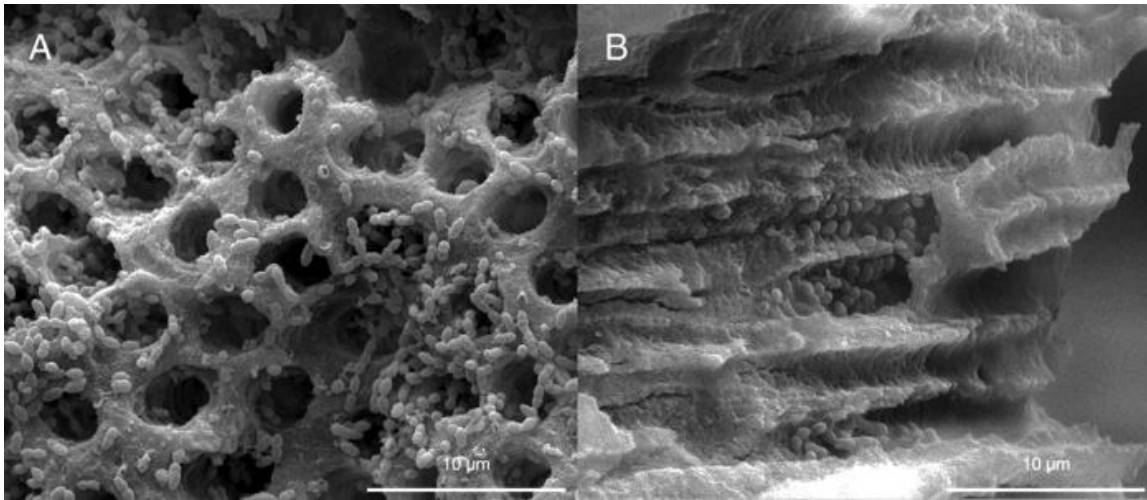


Figura 3, Imágenes SEM de conductos radiculares infectados en el conducto radicular (A) y túbulos dentinarios (B) (9).

(1) *Clostridium botulinum* y *Streptococcus anginosus* (5000x). Canales de comunicación dentro de la biopelícula (a), fusión de fibras extracelulares en forma laminar (b) y la presencia de numerosas fibras poliméricas secretadas por bastones y cocos formando un patrón entrecruzado (c). (2) Biofilm de 3 semanas de *Enterococcus faecalis* sobre dentina (2000x). La densa matriz extracelular de polisacáridos es visible y el reto de erradicar las biopelículas de este microorganismo en parte se atribuye a la capa de los medicamentos para penetrar en esta matriz. Esta es la bacteria más comúnmente implicada en el fracaso del tratamiento del conducto radicular (Cortesía; Dra. Ana María González Amaro, María Verónica Méndez González UASLP México).

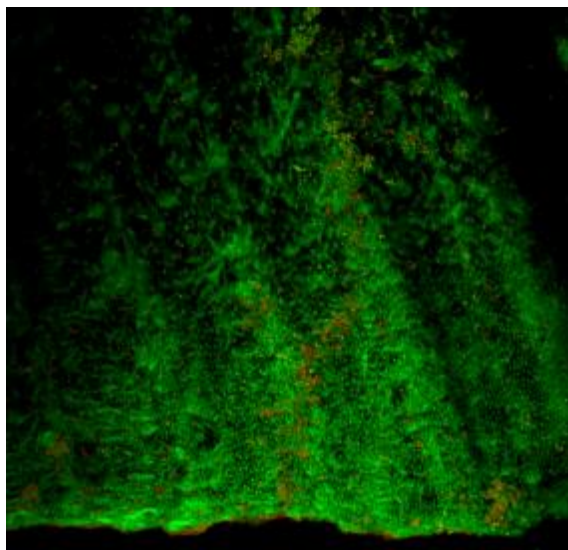


Figura 4 Imagen de microscopia de barrido laser confocal (CLSM) (corte único con un aumento de 20x) de un Biofilm de *Enterococcus faecalis* de una semana de duración dentro del conducto radicular (6).

Se observa densos agregados de bacterias dentro de los túbulos dentinarios. La ventaja de la imagen CLSM es detectar la presencia de bacterias aparentemente muertas (rojo) y aparentemente vivas (verde). También es posible realizar una reconstrucción tridimensional de imágenes Z-stack para estudiar la arquitectura del Biofilm.

Sjogren demostró que las bacterias en el conducto radicular en el momento de la obturación, provocaban una reducción estadísticamente significativa del éxito, un estudio realizado indicó que los conductos con cultivos bacterianos negativos tuvieron una tasa de éxito del 98% en comparación con el 68% que arrojaron cultivos positivos (2).

El conocimiento de la patogénesis de las infecciones endodónticas es importante para establecer estrategias terapéuticas. Se han intentado especialmente conocer las especies bacterianas y su asociación en complejos con los avances en las técnicas de biología molecular se han conducido a la identificación de nuevas especies y clones de bacterias, así como la detección de especies no cultivables presentes en infecciones endodónticas. Diversos estudios han demostrado una amplia diversidad de especies bacterianas dilucidando así el perfil polimicrobiano que incluyen especies de bacterias Gramnegativas en las infecciones endodónticas. Las interacciones de las especies bacterianas y su agrupación con complejos hacen que las infecciones endodónticas sean aún más complejas para la respuesta del sistema inmunitario, lo que puede dar lugar a diferentes síntomas clínicos. *Socransky et al;* fueron los primeros en agrupar las especies de bacterias en complejos, simplificando así su descripción y las relaciones entre los distintivos grupos microbianos en las infecciones (es decir, rojo, verde, naranja, naranja secundario, púrpura o amarillo de acuerdo a la clasificación de la pirámide de *Socransky*) (Figura 1) (10). Entre los diferentes complejos, el rojo del complejo bacteriano, que incluye *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* y *Porphyromonas gingivalis*, ha sido reconocido como un complejo “relacionado con la enfermedad” (11).

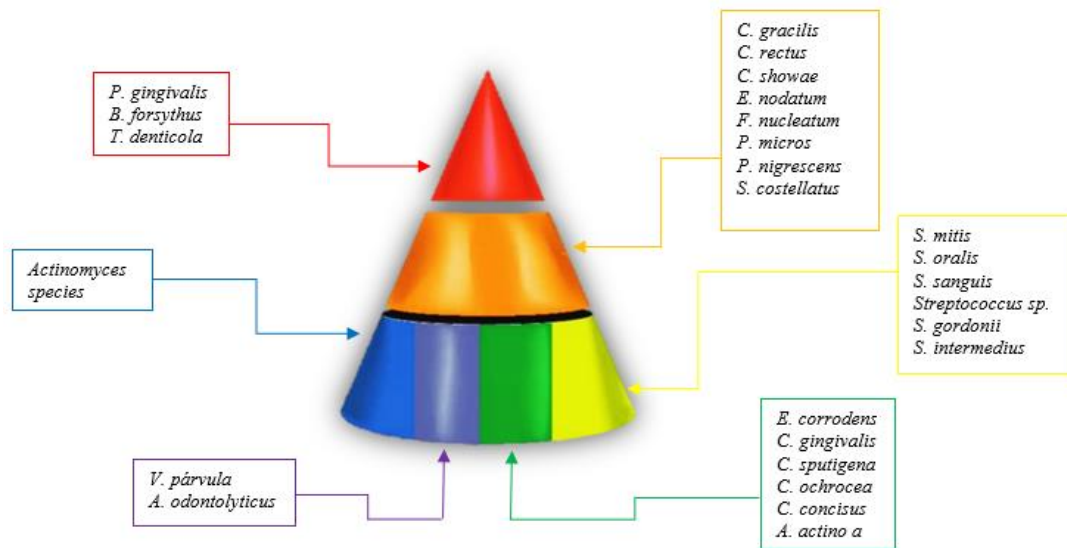


Figura 5, Pirámide de Socransky (9)

Muestra la pirámide que inicia desde la base hasta llegar al vértice, donde están las bacterias más patógenas (relacionadas a la enfermedad periodontal).

En particular, su elevada prevalencia se ha asociado con el desarrollo de síntomas y la movilidad de los dientes correlacionándolo con los niveles de lipopolisacáridos (LPS), también conocidos como endotoxinas. Dicha molécula se libera durante la multiplicación bacteriana y la muerte celular. Además, los niveles de endotoxinas en las infecciones del conducto radicular están directamente relacionados con la gravedad de la destrucción ósea apical (11).

El LPS desafía al sistema inmunológico que conduce a la patología pulpar y perirradicular también juega un papel crítico en la función de la papila dental, como la proliferación y diferenciación celular. El LPS también puede inducir reacciones inmunopatológicas de las células del huésped, incluyendo la liberación de citoquinas y mediadores inflamatorios como las prostaglandinas, en especial la prostaglandina E2

(PGE2), un potente mediador proinflamatorio, se encuentra en cantidades mayores en la pulpa inflamada y tejidos perirradiculares inflamados (12).

2.3.4 Escherichia coli.

Las endotoxinas presentes en las paredes celulares de las bacterias gramnegativas se liberan durante su multiplicación o muerte celular promoviendo varios efectores biológicos que conducen a la inflamación, las reacciones inmunológicas y las reabsorciones periapicales. Estas sustancias son capaces de penetrar y difundirse hacia los túbulos dentinarios alcanzando el cemento en un periodo de 24 horas (Figura 5) (13). Aunque algunos estudios han especulado que un conducto radicular más grande contiene niveles más altos de bacterias y una mayor diversidad de especies bacterianas debido a los nutrientes disponibles en el entorno del conducto y la sinergia entre las especies bacterianas, en el que el metabolismo resultante sirve como nutrientes para cada especie (11).

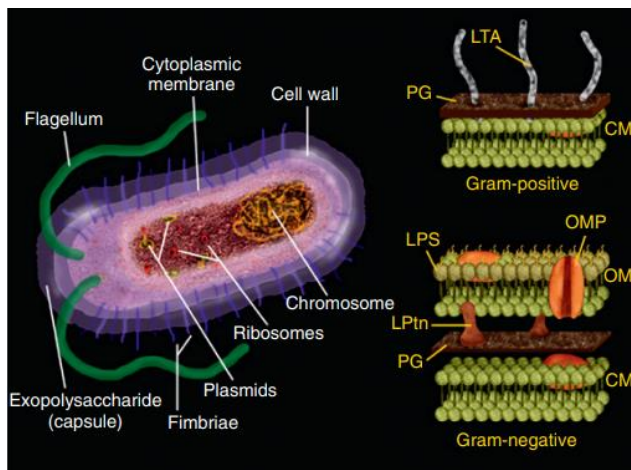


Figura 6 Célula bacteriana y sus componentes estructurales que pueden actuar como factores de virulencia.

A la derecha: un esquema detallado de las paredes celulares bacterianas de bacterias grampositivas y gramnegativas. CM, membrana citoplasmática; LPS, lipopolisacárido (endotoxina); LPTn, lipoproteínas; LTA, ácido lipoteicoico; OM, membrana externa; OMP, proteína de peptidoglicano (14)

II. INTRODUCCIÓN

Las endotoxinas liberadas pueden contribuir a un aumento de neurotransmisores y sustancias vasoactivas alrededor de los haces nerviosos en la región de lesiones periapicales inflamadas teniendo una correlación en los signos y síntomas clínicos tales como dolor a la percusión y palpación (11). Por lo tanto, durante la terapia pulpar, la selección de las sustancias químicas de los agentes irrigantes y la medicación intraconducto debe basarse en su acción contra microorganismos y las endotoxinas (13). En particular *Escherichia coli* (*E. coli*) es una parte natural del microbioma del hombre y otros animales de sangre caliente, alberca en el colon como parte de la flora comensal que vive en una relación simbiótica con el huésped. Por lo tanto, los animales forman un reservorio potencial de *E. coli* patógena. Estos microorganismos causan una amplia variedad de infecciones intestinales y extraintestinales. Es el agente más común de infección del tracto urinario y bacteriemia por gramnegativos, asociada con infecciones tanto de inicio comunitario como relacionadas con la atención médica (15).

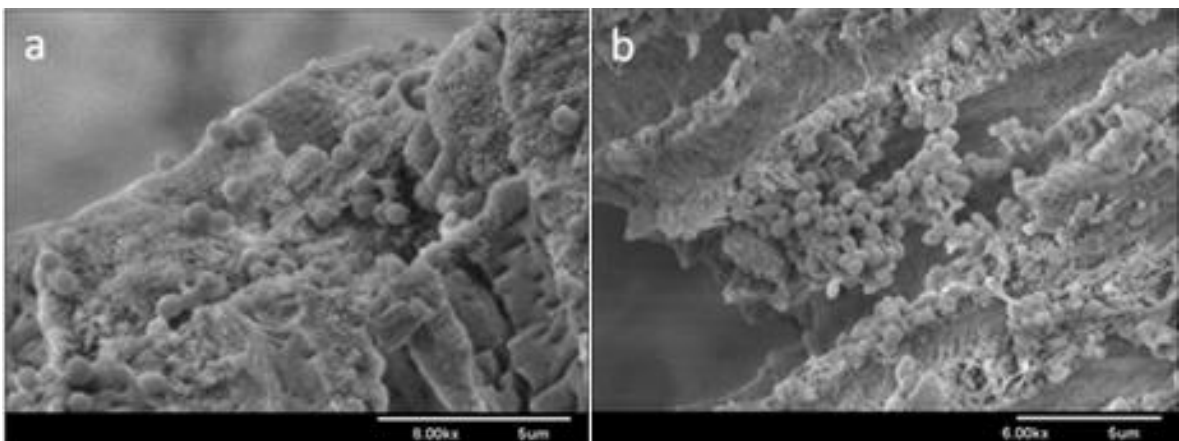


Figura 7 Micrografías electrónicas de barrido que muestran cepas de microorganismos (*Pseudomonas aeruginosa*, *E. Coli* y *Staphylococcus spp.*) (23). (a) en la pared del conducto radicular de la raíz (b) y dentro de los túbulos dentinarios.

Aunque la *E. coli* no se encuentra comúnmente en conductos radiculares con pulpa necrótica, algunos estudios encontraron *E. coli* en conductos radiculares con lesiones periapicales. Su endotoxina presenta la estructura básica del componente lipídico, que representa el centro activo responsable de la toxicidad de los lipopolisacáridos (LPS); *E. coli* penetra mucho menos en los túbulos dentinarios que otras especies (Figura 6). Es posible que esto cuente con su susceptibilidad a los agentes irrigantes (16). Numerosos estudios se han centrado en la capacidad de los irrigantes endodónticos para eliminar los LPS de los conductos radiculares infectados, junto con la acción mecánica de los instrumentos endodónticos y la dinámica del irrigante (17).

2.3.5 *Enterococcus faecalis*.

La colonización humana por enterococos se inicia inmediatamente al nacer a través de la inoculación gastrointestinal de fuentes maternas, la dieta y el medio ambiente (18). De las especies de *Enterococcus*, *Enterococcus faecalis* es la especie más comúnmente aislada o detectada en infecciones orales (19). *E. faecalis* representa una porción significativa de esta población enterocócica temprana y sigue siendo un miembro estable de la comunidad durante toda la vida. En el tracto gastrointestinal, los enterococos están presentes en el lumen, así como nichos más especializados en la capa epitelial de moco, de gran complejidad física y en las criptas epiteliales del intestino delgado (18). Además, es un coco no formador de esporas, fermentativo, anaerobio facultativo y grampositivo. Las células de *E. faecalis* son ovoides de 0.5 a 1mm de diámetro. Se presentan solas, en parejas o en cadenas cortas, y con frecuencia son alargadas en la dirección de la cadena (19).

En particular, se observó una elevada proporción de *E. faecalis* en los casos con periodontitis apical persistente, las infecciones mixtas son más frecuentes que los aislados de un solo organismos. Además, la gran variedad de organismos encontrados en los conductos radiculares puede estar parcialmente relacionada con los principales intereses y técnicas de cultivo de los diferentes investigadores (6). *E. faecalis* es un patógeno oportunista y una de las principales causas de infecciones nosocomiales, aislada con frecuencia en los conductos radiculares sometidos a retratamiento, aunque en un número bajo como proporción de la carga bacteriana global (20). Las investigaciones de *Damien K, Ling Ning, et al*, han demostrado que en casos de infecciones radiculares secundarias la prevalencia de *E. faecalis* puede alcanzar valores de hasta el 70%. También se sabe que el *E. faecalis* es bastante insensible a muchos desinfectantes que se aplican habitualmente durante el tratamiento antiséptico del conducto radicular, entre los que se incluyen la clorhexidina, hipoclorito de sodio e hidróxido de calcio (21). Las infecciones por enterococos asociadas a biopelículas pueden ser especialmente difíciles de tratar debido a su mayor tolerancia a los antimicrobianos y a la eliminación inmunitaria debido a que pueden sobrevivir en monocultivo (Figura 7) (18).

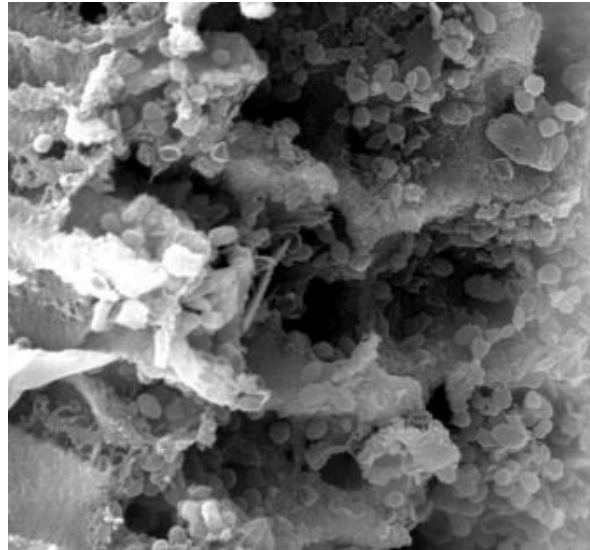


Figura 8, Imagen SEM de la pared del conducto de un premolar humano mono infectado con *E. faecalis* (7).

Se obtuvo del caldo de soja triptico durante 2 semanas. Obsérvense los agregados celulares y la entrada de las bacterias en los túbulos dentinarios. Aumento original 20.000X.

E. faecalis tiene la capacidad de formar biopelículas en diferentes sustratos, *Kishen et al*; destacaron la secuencia de acontecimientos en la interacción de biopelícula de *E. faecalis* con un sustrato de dentina, primero una biopelícula en la dentina del conducto radicular y luego indujo la disolución de la fracción mineral de la dentina. La capacidad de *E. faecalis* para formar biopelículas puede ser un factor que contribuye a su persistencia después de los tratamientos de conductos (Figura 8) (22).

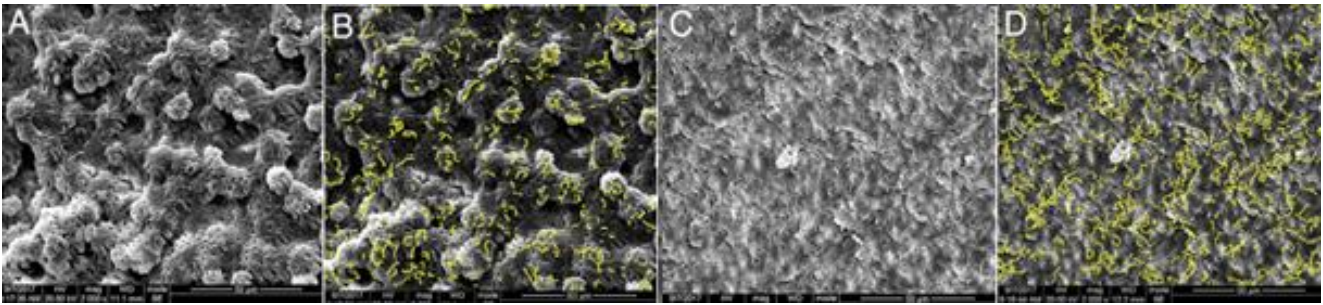


Figura 9 Micrografías electrónicas de barrido representativas de *E. faecalis* (22).

Adherida a (A) superficies de dentina no instrumentada y (C) dentina instrumentada; medición del número de bacterias utilizando imagen-pro plus en (B) superficies de dentina no instrumentadas y D instrumentadas.

2.4 RESISTENCIA BACTERIANA.

Las biopelículas microbianas en el conducto radicular son muy resistentes a los agentes desinfectantes utilizados en el tratamiento de conductos radicular y las biopelículas multiespecíficas amplifican la dificultad de erradicar las biomasas microbianas (Figura 9) (6). En contraste con las pruebas de alto nivel relacionadas con el efecto de la irrigación sobre el éxito, existe una amplia literatura, que ha investigado el efecto de la irrigación para el resultado del tratamiento endodóntico. Además, estos estudios demuestran que la irrigación es un tema complejo. Para ello, es conveniente comenzar con la pregunta “¿Qué elementos determinan una irrigación eficaz?”. El primer paso es considerar los objetivos del riego y las propiedades de un irrigante ideal, en relación con los efectos químicos y mecánicos, ya que son estos son los efectores que

limpian y desinfectan los conductos radiculares, así como conocer la complejidad del sistema de conductos (2).

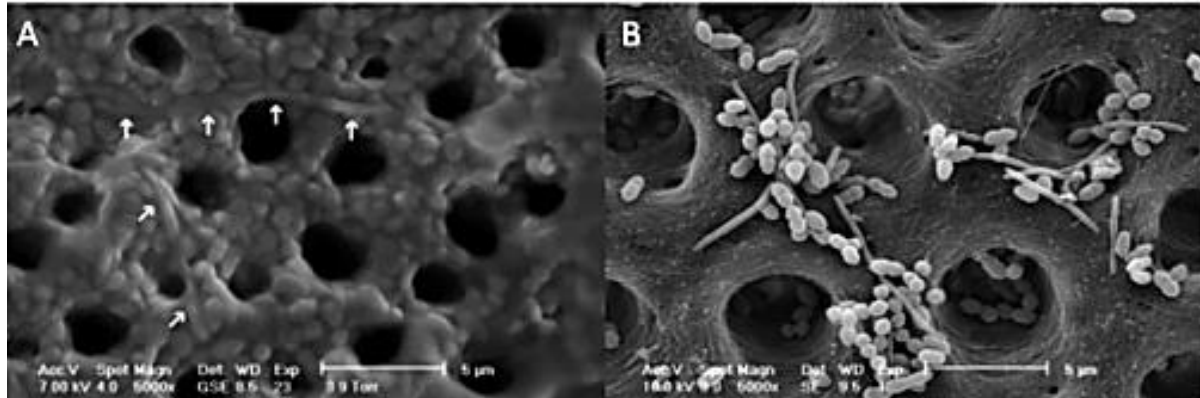


Figura 10 Comparación de imágenes ESEM (microscopía electrónica de barrido ambiental) y SEM (microscopía electrónica de barrido) (12).

(b) que demuestra las diferencias de resolución. (a) Especies de Fusobacterium nucleatum (flechas) en cultivo mixto con E. faecalis; (b) colonias de F. nucleatum y E. faecalis. Ambas especies pueden distinguirse claramente (5000, Fe-CSEM).

De acuerdo a los procedimientos químico – mecánicos desempeñan un papel fundamental en la eliminación o reducción de las poblaciones bacterianas del conducto radicular principal, pero los efectos desinfectantes de los instrumentos y los irrigantes pueden verse algo dificultados en los casos de anatomía compleja y de resistencia del Biofilm microbiano (Figura 10) (23).

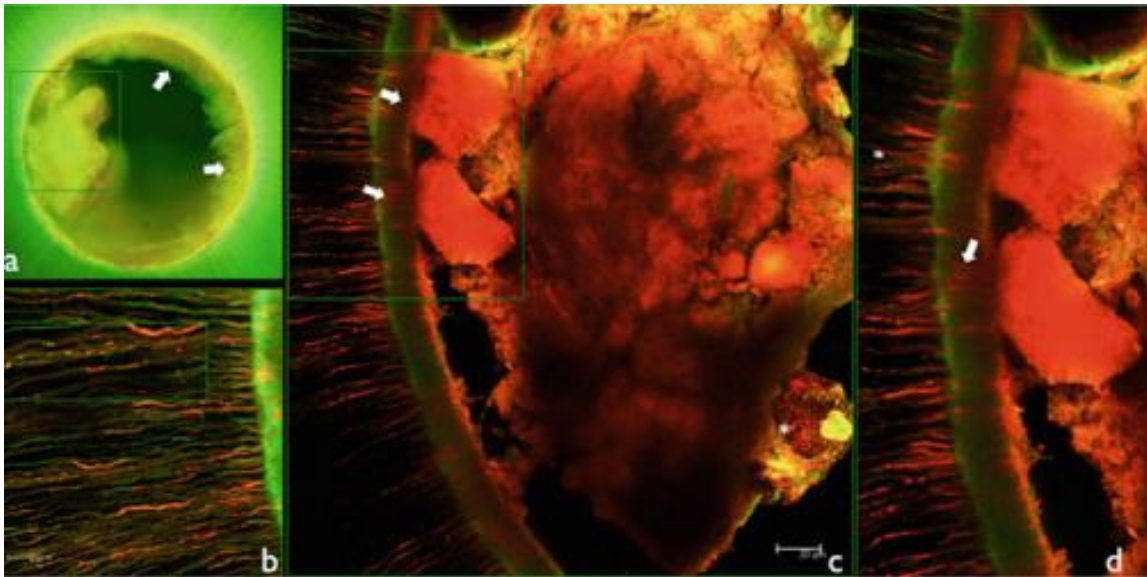


Figura 11 Dientes necróticos de una periodontitis apical inducida experimentalmente en un modelo animal (23).

La muestra se tiñó con el colorante naranja de acridina; el ARN microbiano suele teñirse de rojo/naranja. (a) Vista panorámica del contenido del conducto radicular que muestra una gran masa de tejido necrótico y estructuras orgánicas adheridas a las paredes del conducto radicular (flechas). (b) Ampliación de la dentina mostrando una densa infección dentro de los túbulos dentinarios. (c) Interfaz Biofilm/dentina. Una compleja estructura amorfa microbiana fuertemente teñida adherida a la pared del conducto radicular (cuadrado). (d) Ampliación de la interfaz Biofilm/dentina (mostrada en b) que revela células microbianas que invaden la predentina y varios túbulos dentinarios (flechas).

Por lo tanto, un conocimiento de la morfología del conducto y sus variaciones en todos los grupos de dientes es un requisito básico para el éxito de la terapia endodóntica. El concepto de un “único” conducto radicular con un “único” foramen apical es erróneo. El espacio del conducto radicular es a menudo complejo, con conductos que se dividen y vuelven a unirse, istmos, aletas, anastomosis y conductos accesorios, así como deltas apicales. Por esta razón, se le ha denominado sistema de conductos. La complejidad del sistema de conductos ha sido demostrada por varios autores desde el siglo XIX por

Carabelli, que proporcionó una descripción exhaustiva del número y ubicación de los conductos radiculares (Figura 11) (23).

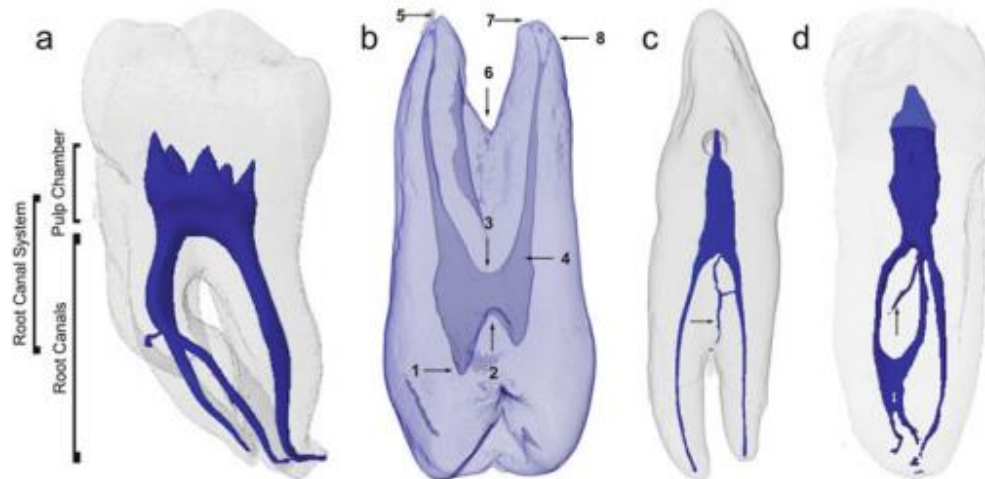


Figura 12 Anatomía del conducto radicular (23).

(a) El sistema de conductos radiculares se divide en la cámara pulpar, situada en la corona anatómica del diente, y los conductos radiculares, dentro de la raíz. (b) Otros puntos de referencia anatómicos son los cuernos pulpares (1), el techo pulpar (2), el suelo pulpar (3), el orificio del conducto (4), el ápice anatómico (5), la furcación (6), el foramen apical (7), los forámenes accesorios (8) y las furcaciones de los conductos (flechas c y d).

Sin embargo, ninguna cumple todos los requisitos necesarios para ser considerada un irrigante ideal, en los cuales los principales requisitos incluyen un amplio espectro antibacteriano, la disolución de restos de tejido pulpar vital y necrótico, y evitar la formación de una capa de barrillo dentinario durante la preparación mecánica (o la disolución cuando se forme). Sin embargo, cada solución tiene propiedades únicas (3).

Es importante mencionar que la razón más común para el fracaso de los tratamientos de endodoncia, es la persistencia de bacterias patógenas dentro de los conductos radiculares; ya sea, que permanezcan en el espacio del conducto radicular

después del tratamiento o que vuelvan a colonizar el sistema de conducto, por ello, ni la irrigación, ni los medicamentos intraconductos actuales pueden dejar los conductos radiculares completamente libre de bacterias, por lo tanto, el descubrimiento de nuevos agentes de irrigación con antimicrobianas mejoradas podrían beneficiar tanto al paciente como al clínico (24).

2.5 SOLUCIONES IRRIGANTES.

Las soluciones irrigantes también son importantes porque podrían influir en las propiedades mecánicas de la estructura dental, así como ayudar a la limpieza del conducto radicular. Algunos estudios han identificado una relación entre los defectos mecánicos de la estructura dental, como la reducción de la micro dureza de la dentina radicular o un aumento de la incidencia de la fractura vertical con las soluciones químicas, tales como la alta capacidad de eliminación de la capa de barrillo dentinario y el tiempo de exposición de la dentina a las soluciones irrigantes (3).

Históricamente, se han sugerido innumerables compuestos en solución acuosa como irrigantes del conducto radicular, incluyendo sustancias inertes como cloruro de sodio (solución salina) o biocinas altamente tóxicos y alergénicos como el formaldehído. Basándonos en los conocimientos anteriores, parece evidente que los irrigantes del conducto radicular idealmente deberían presentar las siguientes características (8):

- Tener amplio espectro antimicrobiano y una alta eficacia contra los microorganismos anaerobios y facultativos organizados en biofilms.
- Disolver los restos de tejido pulpar necrótico.
- Inactivar la endotoxina.

- Impedir la formación de una capa de barrillo durante la instrumentación o disolver esta última vez que se ha formado.

Además, como los irrigantes endodónticos entran en contacto con los tejidos vitales, deben ser sistémicamente no tóxicos, no cáusticos para los tejidos periodontales y tener poco potencial para causar una reacción anafiláctica (8).

Aunque el yodo es menos citotóxico e irritante para los tejidos vitales que el hipoclorito de sodio y la clorhexidina, tiene un riesgo mayor de provocar una reacción alérgica. Lo mismo ocurre con los compuestos de amonio cuaternario. Las sensibilidades al hipoclorito de sodio y la clorhexidina son raras. A pesar de su uso omnipresente solo se han descrito unos pocos casos de reacciones alérgicas al hipoclorito de sodio utilizándolo en los conductos radiculares. De todas las sustancias utilizadas actualmente, el hipoclorito de sodio parece ser el más idóneo, ya que cubre más requisitos para el irrigante endodóntico que cualquier otro compuesto conocido (8).

La limpieza y la conformación son pasos importantes e interdependientes en el tratamiento de conducto radicular y requiere de un protocolo de irrigación adecuado para cualquier caso, el cual va descrito de la siguiente manera: irrigar utilizando cantidades copiosas de hipoclorito de sodio, activar el irrigante, lavar con agua bidestilada, seleccionar la solución de irrigación para el manejo de la capa de barrillo dentinario y por último la irrigación final nuevamente con agua bidestilada (25).

2.5.1 HIPOCLORITO DE SODIO.

La investigación y la experiencia clínica han demostrado que el hipoclorito de sodio (NaOCl) tiene varias propiedades que contribuyen a un desbridamiento quimio-mecánico eficaz de un sistema de conductos radiculares. Actúa como lubricante para la instrumentación y puede eliminar los microorganismos del conducto radicular. Es un agente antimicrobiano eficaz para desintoxicar el sistema de conductos radiculares (26). Además, tiene la capacidad única de disolver el tejido necrótico y los componentes orgánicos del barrillo dentinario. Elimina los patógenos endodónticos sésiles organizados en biopelículas y en los túbulos dentinarios tal como la clorhexidina o el yodo a una concentración comparable (8).

El cloro es uno de los elementos más ampliamente distribuidos en la tierra. No se encuentra en estado libre en la naturaleza, sino que existe en combinación con sodio, potasio, calcio y magnesio (8). El uso de estos agentes oxidantes fuertes como irrigantes del conducto radicular tiene una larga tradición en odontología. Contiene agentes blanqueadores por lo que, en teoría, presenta un potencial de eliminar los discos que se encuentran en los conductos radiculares y es capaz de la decoloración de los dientes durante el tratamiento de conductos debido a que el hipoclorito es estable a pH alto (27)

El hipoclorito de potasio fue la primera solución acuosa de cloro producida químicamente inventada en Francia por *Berthollet* (1748 – 1822). A partir de finales del siglo XVIII, esta solución fue producida industrialmente por *Percy Javel*, cerca de Paris, de ahí el nombre de “Agua de Javel”. En primer lugar, las soluciones de hipoclorito se utilizaban como agentes blanqueadores. Posteriormente el NaOCl fue recomendado por

Labarraque (1777 – 1850) para prevenir la fiebre infantil y otras enfermedades infecciosas. Basándose en los estudios de laboratorio controlados de *Koch* y *Pasteur* (8). El químico *Henry Drysdale Dakin* y el cirujano *Alexis Carrel* informaron el uso de una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% para la irrigación de las heridas de los soldados en la Primera Guerra Mundial. *Walker*, de esta forma se nombró a la concentración de 0.5% “Dakin” y se investigó distintas concentraciones eficaces contra el tejido necrótico infectado (28). Además, su amplio espectro, la eficacia de eliminación inespecífica de todos los microbios, los preparados de hipoclorito son esporicidas, viricidas y muestran efectos de disolución tisular mucho mayores en los tejidos necróticos que en los vitales (8).

En 1936 se descubrió que una solución de sosa clorada era un buen disolvente de material orgánico. *Grossman* y *Meiman*, realizaron los primeros experimentos que demostraron la acción disolvente de una solución de sosa clorada en el tejido fresco de la pulpa. Fue hasta 1920 cuando se impulsó el uso de hipoclorito sódico acuoso en endodoncia como principal irrigante. Ha habido mucha controversia sobre la concentración de las soluciones de hipoclorito que deben utilizarse en endodoncia. Como la solución original de hipoclorito de sodio al 0.5% de Dakin, se supuso que en el área confinada de un sistema de conductos radiculares se deberían utilizar concentraciones más altas, ya que serían más eficaces que la solución de Dakin (8). Muchos endodoncistas utilizan el NaOCl en solución al 5% como irrigante. Sin embargo, algunos clínicos prefieren soluciones más diluidas (28).

La eficacia antibacteriana y la capacidad de disolución de los tejidos del hipoclorito acuoso están en función de su concentración, pero también lo está su toxicidad. Al parecer, la mayoría de los profesionales en endodoncia utilizan hipoclorito de sodio al 5.25% de potencial total, tal como se vende en forma comercial (8).

Se ha informado de irritaciones graves cuando estas soluciones concentradas se introducen inadvertidamente en los tejidos periapicales durante la irrigación o se filtran a través del dique de goma. Además, una solución al 5.25% disminuye significativamente el módulo elástico y la resistencia a la flexión de la dentina en comparación con la solución salina fisiológica, mientras que una solución al 0.5% no lo hace. Esto se debe probablemente por la acción proteolítica del hipoclorito concentrado sobre la matriz de colágeno de la dentina. Por otra parte, la reducción del microbiota intraconducto no es mayor cuando se utiliza NaOCl al 5% como irrigante en comparación con el 0.5% (8).

Un estudio realizado por *Maud Guivarc'h et al.*, acerca de los accidentes por hipoclorito de sodio, demostraron que la descripción de los síntomas después de la extrusión de hipoclorito era aguda y de inicio repentino (Figura 12). El dolor severo fue casi sistemático a pesar de que los pacientes estaban anestesiados. Se informó hemorragia profusa a través del conducto radicular en un tercio de los casos. La hinchazón se produjo en casi todos los casos, apareciendo desde unos minutos hasta unas horas después del accidente. La hinchazón generalmente era grande y difusa (similar a la celulitis), y se extendía intraoral y extraoralmente mucho más allá del sitio del diente afectado. Cuando estas extrusiones involucran el seno maxilar, el efecto inmediato indicó un cuadro clínico diferente. En lugar de un dolor agudo, los primeros

signos fueron irrigación que fluía de las fosas nasales junto con el sabor del NaOCl en la garganta. Por lo general, se presentó una sensación de ardor en el seno maxilar en lugar de dolor intenso, con poco o ningún sangrado del conducto y sin evidencia de inflamación inmediata. Esta extrusión también puede provocar epistaxis y congestión sinusal debido a que no fue extruido en un espacio cerrado, lo que permitió su evacuación, limitando así el tiempo de contacto (29).



Figura 13 Accidente por hipoclorito de sodio (30).

(a) Muestra el caso de una paciente femenina de 14 años de edad con hinchazón de la mejilla izquierda y equimosis difusa en la cara. (b) Segundo caso de un paciente masculino de 13 años de edad con una marca de necrosis tisular, ulceración y equimosis difusa.

De acuerdo a las grandes desventajas por el NaOCl, el aumento de las cepas resistentes a los antibióticos y los efectos secundarios causados por los medicamentos sintéticos han impulsado a los investigadores a buscar alternativas a base de plantas.

Recientemente, *Murray et al*, evaluaron el jugo de *Moringa citrifolia* junto con el EDTA como posible alternativa al NaOCl (31). Un estudio reciente informó que el NaOCl era capaz de erradicar la biopelícula de *E. faecalis* después de 1 minuto a una concentración de 0.00625%, cultivando el microorganismo en un dispositivo de formación de Biofilm de Calgary, sin embargo, la misma concentración no puede ser eficaz en la biopelícula formada en el sustrato dental (31).

2.5.2 ALTERNATIVA HERBOLARIA.

Triphala es una fórmula ayurvédica india (medicina tradicional y alternativa) que consiste en frutos secos y pulverizados de tres plantas medicinales *Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula* y *Emblica officinalis* y polifenoles de té verde (GTP), el potencial curativo de las plantas es una idea antigua, pero en los últimos tiempos ha adquirido un renovado interés e importancia, así como lo es el tripala y el GTP demostrando ser seguras y contienen componentes activos que tienen efectos beneficiosos para la salud (31). *Sakanaka et al*, ha informado que los extractos de té verde japoneses tienen una acción antibacteriana contra el *Streptococcus mutans* además se han informado recientemente de que tienen una acción antibacteriana contra diversas bacterias que habitan en los intestinos, bacterias de los conductos radiculares infectados, y los anaerobios obligados, sin embargo, hay pocos informes sobre la acción antibacteriana del té verde contra los anaerobios obligados (32).

El té verde se deriva de la planta autóctona *Camellia sinensis* y ha sido ampliamente estudiada por sus efectos beneficiosos sobre la salud general y bucodental, teniendo gran poder antioxidante, antiinflamatorio, anticancerígeno, antihipertensiva y

regenerativa. Los principales componentes del té verde elaborado son los polifenoles, de los cuales el epigallocatequina-3-galato (EGCG) es el más abundante y biológicamente activo. Se cree que las propiedades antioxidantes y de eliminación de radicales libres de la EGCG son las principales responsables del efecto protector del consumo del té contra los riesgos de cáncer, la degradación neuronal y las enfermedades coronarias. Aunque también se sabe que el EGCG tiene propiedades antiinflamatorias (33). Además *Nishiyama y Kozaki* informo que el té verde presenta polifenoles como lo es la catequina teniendo gran poder antibacteriano contra bacterias lácticas y sugirieron que algún tipo de polifenol estaba implicando la inhibición del crecimiento bacteriano (32). Así mismo *Ji Young Hwang et al.*, informa que el extracto de té verde posee una actividad la prolongar la supervivencia de los aloinjertos y es posible utilizarlo como medio de almacenamiento para mantener la viabilidad de las células del ligamento periodontal en dientes avulsionados (34).

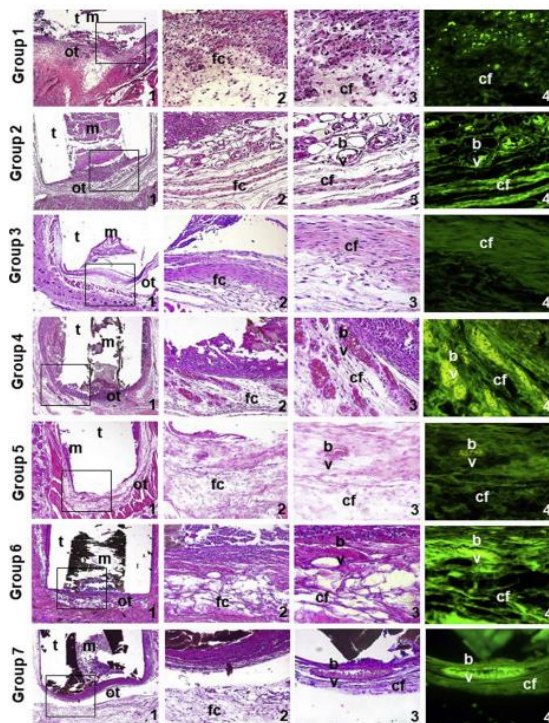


Figura 14 Imágenes microscópicas representativas de la reacción del tejido subcutáneo de los ratones (29).

Todas las formulaciones probadas (Grupo 1, pasta Calen – control; grupo 2, EGCG 0.12mg – 1 H₂O; grupo 3, EGCG 0-12mg – 1 PEG 400; grupo 4, EGCG 1 PEG 400 1.25mg/mL; grupo 5, EGCG 1 PEG 400 – 5mg/mL; grupo 6, EGCG 1 PEG 400 – 10mg/mL; grupo 7, EGCG 1 PEG 400 – 20mg/mL) en diferentes periodos experimentales a los 7, 21 y 63 días. Esta vista, de 21 días, muestra la angiogénesis, la infiltración de algunos neutrófilos y células mononucleares y la formación de fibras en la región del tubo de polietileno implantado. T. tubo de polietileno reacción:

II. INTRODUCCIÓN

El uso local y sistémico del EGCG ya se ha sugerido para la prevención y tratamiento de la enfermedad periodontal y en la reducción de la pérdida de hueso alveolar inducida por la endotoxina bacteriana. El EGCG promueve la regeneración del hueso alveolar y la conservación de los dientes avulsionados tras un traumatismo al mantener la vitalidad de las células del ligamento periodontal. Un estudio previamente realizado informa sobre el uso sistémico de EGCG en ratones (Fig13), proporciona una marcada reducción de la extensión y la gravedad de las lesiones periapicales en dientes con necrosis pulpar cuando se utiliza como solución de irrigante, presentando una acción antimicrobiana contra patógenos endodónticos, además de evaluar la lesión periapical inducida experimentalmente en dientes de perros (Figura 14) (35).

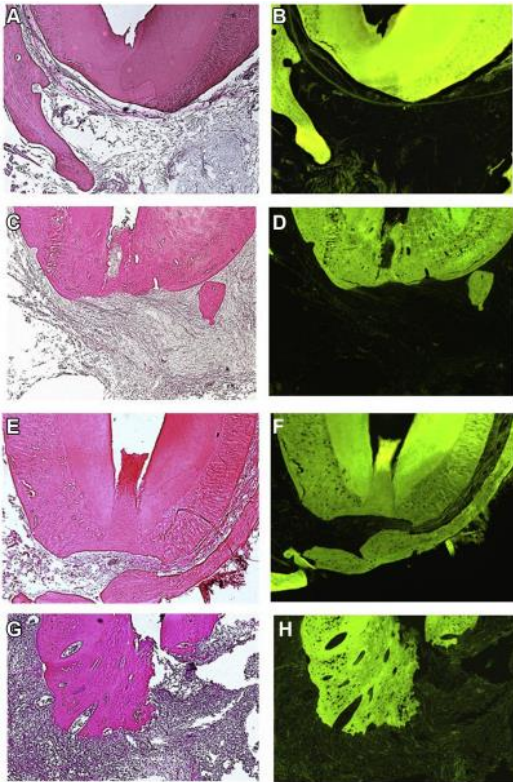


Figura 15 Fotomicrografías representativas de las regiones apicales y periapical de perros (35).

A 120 días después del tratamiento endodóntico con pasta a base de EGCG (PEG 400) observado bajo (A) microscopia de luz convencional y (B) fluorescencia; tratamiento endodóntico con apósito intraconducto con EGCG y agua observado bajo (C) microscopia de luz convencional y (D) fluorescencia; tratamiento endodóntico con apósito intraconducto con pasta de hidróxido de calcio bajo (E) microscopia de luz convencional y (F) fluorescencia; y tratamiento endodóntico de sesión única observado bajo (G) microscopia de luz convencional y (H) fluorescencia.

El EGCG puede aumentar significativamente la fuerza de adhesión del cemento a las paredes del conducto radicular, este beneficio se consigue gracias a su acción antioxidante neutralizando el hipoclorito de sodio residual y el oxígeno e inhibiendo la actividad proteolítica de las metaloproteinasas de la matriz (35).

2.6 ANTECEDENTES DE ALTERNATIVAS HERBOLARIAS.

Se han implementado diversas alternativas herbolarias para el uso de irrigantes en la endodoncia como la curcumina utilizada en el estudio por *Jualian M. Sotomil et al.*, en el año 2019.

Andiara et al. En el año 2021 utilizaron el epigallocatequina-3-galato para estudiar la formulación como uso endodóntico evaluando sus propiedades fisicoquímicas y biológicas, el cual obtuvieron como resultado que la caracterización fisicoquímica realizada bajo espectrofotometría ultravioleta visible mostró que las propiedades permanecían inalteradas en función al pH ácido, no mostraban necrosis tisular cuando lo exponían algún tejido, edema o vascularización (35).

Marina Moscardini et al. En el año 2020, realizó un estudio para evaluar la eficacia de la té verde y su extracto, EGCG, en la reducción del microbiota criogénica en niños en un ensayo aleatorio, teniendo como resultado una reducción significativa del 79%, por lo que concluye que el té verde y su extracto podrían utilizarse como alternativas a los enjuagues bucales a base de clorhexidina (36).

II. INTRODUCCIÓN

Xin xu et al. En su estudio que lleva como nombre el galato epigallocatequina de la catequina del te suprime los factores de virulencia criogénicos de *Streptococcus mutans* concluyo que los efectos antimicrobianos contra los enterococos orales se atribuya principalmente al daño irreversible de la membrana citoplasmática microbiana (37).

Un estudio realizado por *Suruchi Thawre et al.*, en el año 2020, realizaron un estudio que tuvo como objetivo evaluar y comparar la eficacia antimicrobiana del aceite de árbol de té, nisina y el hidróxido de calcio contra la *E. faecalis*, preparándolos en medios en placas de agar Typtic Soya, teniendo como resultado que el aceite de árbol de té mostro una fuerte actividad antimicrobiana, seguida de la nisina y el hidróxido de calcio teniendo una actividad moderada (Figura 15) (38)

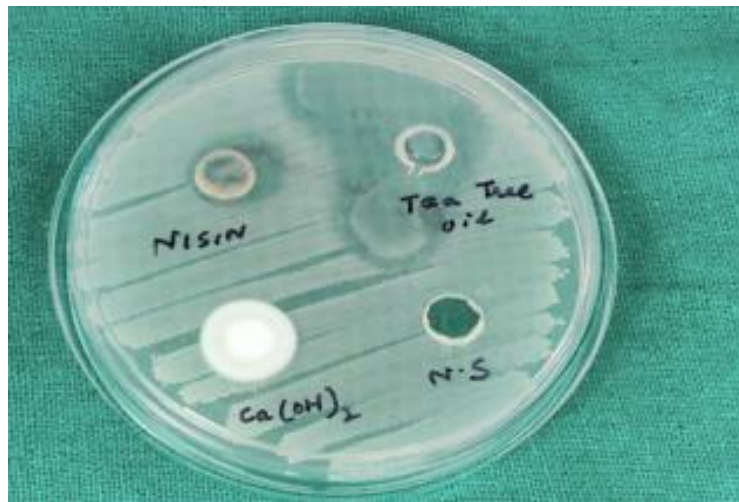


Figura 16 Zonas de inhibición del aceite de árbol de té, nisina, hidróxido de calcio y solución salina normal contra *E. faecalis* (38).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a las grandes desventajas que presenta el hipoclorito de sodio como la incapacidad de eliminar el barrillo dentinario y no presentar biocompatibilidad con los tejidos vitales, se ha considerado investigar acerca de nuevas alternativas herbolarias, por lo que nos hace plantearnos las siguientes preguntas.

¿Sera más efectivo una alternativa herbolaria como agente irrigante en endodoncia?

¿Frente a qué tipo de bacterias tendría mayor eficacia un irrigante alternativo y el hipoclorito en distintas concentraciones?

IV. JUSTIFICACIÓN

En endodoncia se requiere de agentes irrigantes potentes para lograr una adecuada desinfección del conducto radicular, por lo que en la actualidad el agente ideal ha sido el hipoclorito de sodio (NaOCl) ya que presenta un gran efecto antimicrobiano, un pH alcalino y puede matar las bacterias en concentraciones entre 0.5% al 5%. Sin embargo, presenta una gran desventaja como eliminar el barrillo dentinario por lo que puede inactivar o disminuir la actividad antimicrobiana del mismo, además de presentar una gran actividad toxica para los tejidos periapicales.

Hoy en día se opta por utilizar recursos más económicos y ecológicos para el medio ambiente, por ello, la utilización de irrigantes alternativos como lo es el uso de la herbolaria ha sido una opción.

El uso de la Tripala se ha utilizado como alternativa ya que presenta propiedades antibacterianas y antiinflamatorias, así como el uso del té verde por poseer una gran actividad antioxidante tanto *in vitro* como *in vivo* por la presencia de flavonoides polifenólicos.

El presente estudio de investigación ayudará a comprender la relación de las distintas concentraciones de hipoclorito y la eficacia que tienen hoy en día los irrigantes alternativos frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*, en una situación *in vitro*.

V. HIPÓTESIS

5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El irrigante a base té verde tiene una capacidad antimicrobiana superior al hipoclorito de sodio en sus distintas concentraciones; frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*.

5.2. HIPÓTESIS NULA

El irrigante a base de té verde no tiene una relevancia antimicrobiana significativa a diferencia del hipoclorito de sodio en ninguna de sus concentraciones; frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*.

5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA

5.3.1. El irrigante a base de té verde puede ser más eficaz contra la bacteria *Escherichia coli* que contra el *Enterococcus faecalis*.

5.3.2. El irrigante a base de té verde puede ser igual de eficaz que el hipoclorito de sodio al 2.5%.

VI. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto de té verde contra cepas de *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis* por el método de microdilución en comparación al hipoclorito de sodio (2.5% y 5.25%).

6.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

6.2.1. Comparar la actividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio y té verde contra cepas de *E. coli* y *E. faecalis*

6.2.2. Observar que dilución de té verde es la más óptima para obtener mayor inhibición antimicrobiana.

VII. VARIABLES

7.1. VARIABLES INDEPENDIENTE (VI):

7.1.1. Diluciones del extracto

7.2. VARIABLE DEPENDIENTE (VD):

7.2.1. Extracto de té verde

7.2.1. Actividad antimicrobiana

7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES

Utilizando tubos eppendorf de 1.5 mL se colocaron las muestras del extracto de té verde y NaOCl (5.25% y 2.5%) junto con las bacterias incubándolas en un periodo de 72 horas, posteriormente se utilizó una microplaca de 96 pocillos, se colocaron 100 µL de la muestra de cada uno de los tubos y se colocaron en el lector de microplaca para medir la absorbancia a 400 – 700 nm y los datos obtenidos se analizaron estadísticamente utilizando Análisis de Varianza ANOVA bidireccional.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental *in vitro*

8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

Escherichia coli y *Enterococcus faecalis*

8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL

Se recolecto la muestra de las hojas de té verde (*Camellia sinensis*) en un periodo de 8 semanas, se lavaron y colocaron en una bolsa de papel craft para su conservación y secado en un lugar seco a temperatura ambiente durante un periodo de 12 semanas (imagen 1) para después triturarlas en licuadora con vaso de vidrio y obtener el extracto el cual se preparó en conjunto con alcohol etílico absoluto (Karal, S.A. de C.V.) y se colocó en el equipo de destilación para posteriormente pasarlo al equipo de filtración, además se obtuvo las concentraciones de hipoclorito de sodio al 5.25% (DF, Dentalflux, Madrid, España) que en base a este se obtuvo la concentración del hipoclorito de sodio para preparar una dilución de al 2.5%. Además, se utilizó tubos eppendorf de 1.5 mL donde se colocó caldo de medio de cultivo (Mueller Hinton), posteriormente se colocaron las cepas de *E. faecalis* y *E. Coli* y extracto de té verde. En un segundo bloque de tubos eppendorf se añadió el hipoclorito de sodio al 5.25% y 2.5%, de igual forma se utilizó peróxido de hidrogeno al 30% estabilizado (Baker Analyzed, J.T. Baker) para la obtención del control negativo a los tubos que solo contenían medio de cultivo y cepa.

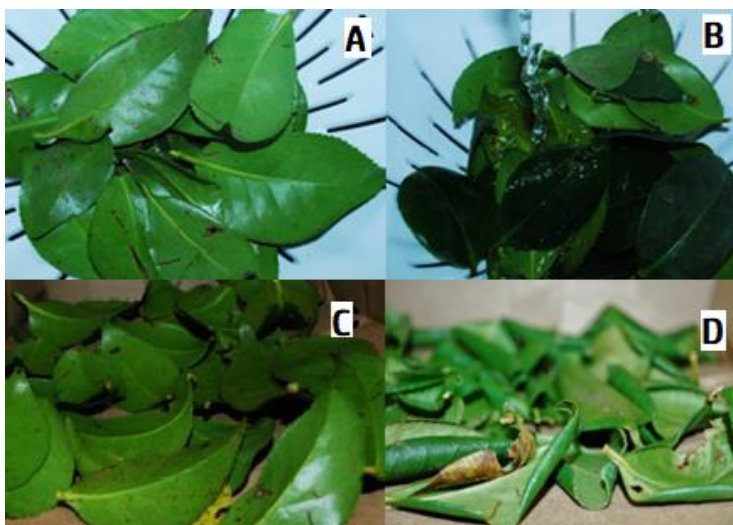


Imagen 1, Recolección de la muestra

A: recolección de las hojas; B: lavado de las hojas; C: conservación de las hojas en papel craft; D: hojas secas a los 10 días.

8.4. METODOLOGÍA

Evaluación de la actividad antibacteriana (método de microdilución en caldo)

8.4.1. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

La muestra se pesó en una balanza electrónica analítica de precisión (Explorer, Pro), obteniendo 44.43 g y se disolvió en 198 mL de alcohol etílico absoluto (Karal, S.A. de C.V.) por un periodo de 17 horas en agitación (Imagen 2). Posteriormente se filtró empleando equipo de filtración de succión utilizando un filtro de pliegues para eliminación de muestra y solo proceder a trabajar con el concentrado (Imagen 3). Dicho concentrado se colocó en un equipo de destilación (Vevor, USA) controlando la temperatura de 85 °C por un periodo de 4 horas (imagen 4). Posteriormente se realizó doble filtración por

aspiración utilizando un filtro de 45 μ m para la eliminación de residuos y solo obtener el extracto. Finalmente se obtuvo aproximadamente 6 mL de extracto y se conservó en un gotero ámbar de 13 mL (imagen 5).



Imagen 2, obtención del extracto etanólico



Imagen 3, Filtración de extracto de té verde



Imagen 4, Proceso de destilación

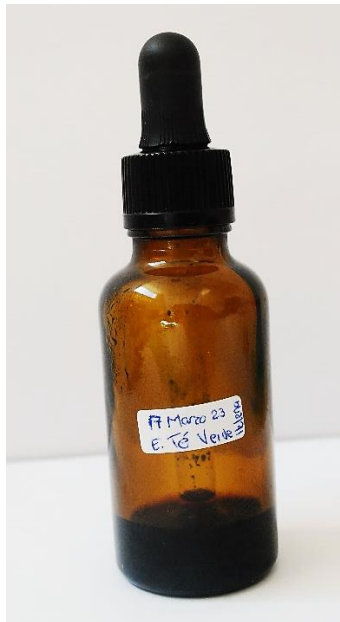


Imagen 5, Extracto de té verde

8.4.2. PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE HIPOCLORITO DE SODIO

Para la concentración del hipoclorito de sodio al 5.25% se utilizó de la marca comercial DF Dentalflux (Madrid, España) (imagen 6), se tomó un volumen de 23.81 mL de hipoclorito de sodio al 5.25% y se agregó 26.19 mL de agua destilada para obtener la concentración de 2.5% siendo un total de 50 mL (imagen 7).



Imagen 6, Hipoclorito de sodio al 5.25%

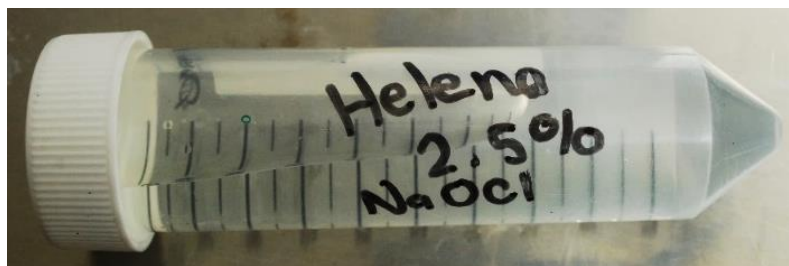


Imagen 7, Hipoclorito de sodio al 2.5%

8.4.3. PREPARACIÓN DEL INOCULO

Para preparar el inoculo, las 15 cepas fueron descongeladas, sembradas en medio TSA (DIFCO, Becton Dickinson and Co., Maryland, USA) e incubadas por un periodo de 18 a 20 horas a 37 °C. Se tomaron 100 µL de cepa y se colocó en una microplaca de 96 pozos para medir el porcentaje de absorbancia. La turbidez de la solución resultante se ajustó a valor del estándar 0.5 McFarland, lo que equivale a 10⁸ UFC/mL. Ajustada la turbidez de la suspensión bacteriana, en un vial se colocaron 0.1mL de la misma y se agregaron a 9.9 mL de caldo de Mueller-Hinton estéril para obtener una solución con 1 x 10⁶ UFC/mL

8.4.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBIDORA (MIC)

Para la evaluación de la concentración mínima inhibitoria se realizaron los experimentos en la campana de flujo laminar (imagen 8) empleando tubos eppendorf con capacidad de 1.5 mL con fondo en U y tapa. Posteriormente se añadió a los tubos del I al VIII volúmenes de 500 µL, 400 µL, 300 µL, 200 µL, 100 µL, 50 µL, 25 µL y 10 µL de extracto de Té Verde respectivamente. En los tubos IX y X se colocó 5.25% y 2.5% de hipoclorito de sodio. Finalmente se añadió un volumen de 4 µL de bacteria *E coli* a cada tubo, completando el volumen con 900 µL caldo Muller – Hinton. Para la evaluación con la cepa *E. faecalis* se llevó a cabo el mismo procedimiento. (imagen 9).

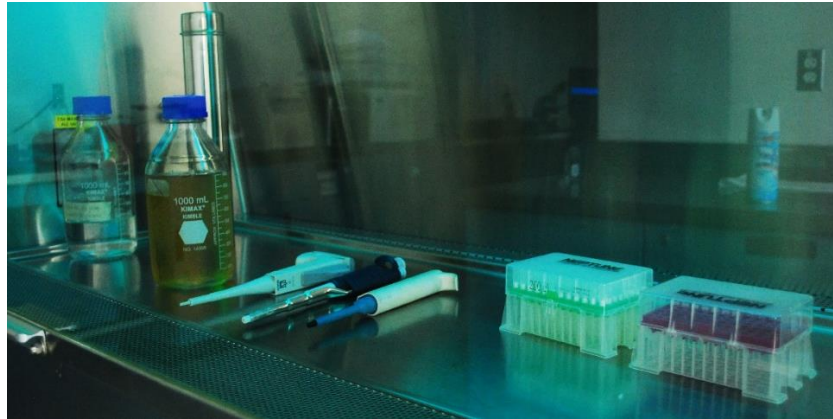


Imagen 8, Material en campana de flujo laminar

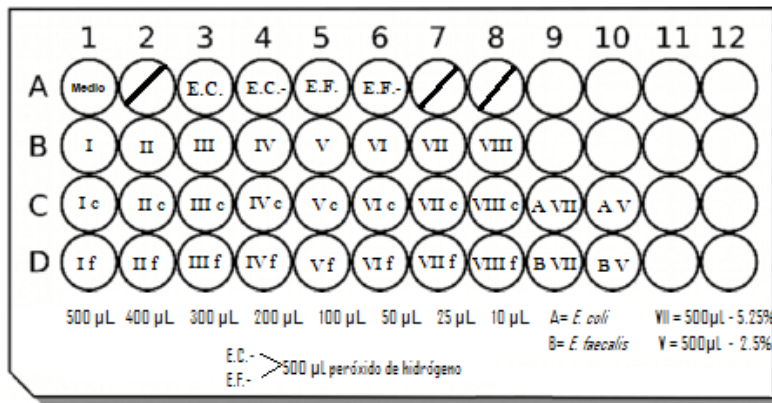


Imagen 9, Esquema representativo

Los tubos se taparon perfectamente y se incubaron a 37 °C por un periodo mínimo de 24 h (imagen 10).



Imagen 10, Incubación de las muestras

Posteriormente se centrifugaron los tubos por 10 minutos a una temperatura de 5 °C homogenizando el contenido (imagen 11), posteriormente se colocó 100 μ L en una microplaca de 96 pozos (imagen 12) para medición de la concentración mínima inhibitoria ajustándose a una absorbancia de 400 – 700 nm en el lector de espectroscopia UV-Vis.



Imagen 11, Muestra del precipitado

A: Tubos previamente al centrifugado; B: Tubos centrifugados durante 10 minutos.

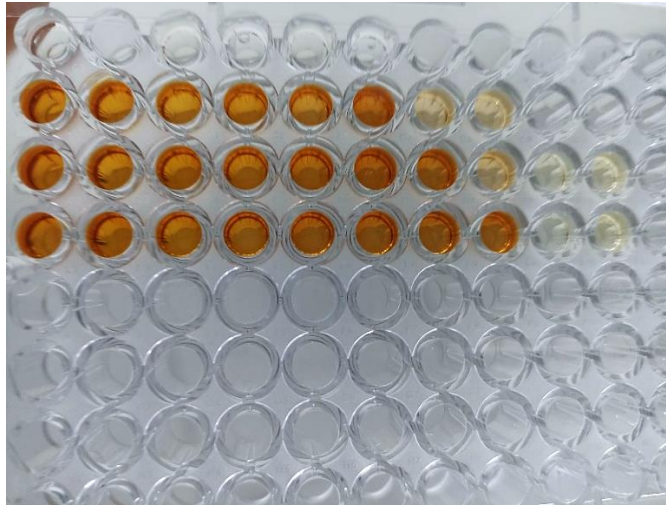


Imagen 12, Colocación de la muestra en microplaca de 96 pozos

8.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determino por análisis estadístico de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) bidireccional

IX RESULTADOS

9.1. LECTURA DE LA ABSORBANCIA EN ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Se analizaron tres tipos de irrigantes, dos a base de hipoclorito de sodio en dos diferentes concentraciones (5.25% y 2.5%) y uno como alternativa herbolaria a base de té verde en diferentes diluciones (500 μ L, 400 μ L, 300 μ L, 200 μ L, 100 μ L, 50 μ L, 25 μ L y 10 μ L), estos fueron utilizados en una microdilución en caldo utilizando dos diferentes cepas bacterianas (*E. coli* y *E. faecalis*) en el cual se midió la absorbancia para determinar la inhibición bacteriana de las mismas. El sistema óptico para la lectura utiliza fibras que suministra luz a los pozos de la microplaca que contienen las muestras de las cepas bacterianas y los irrigantes. La luz emitida por el lector de microplaca pasa por las muestras y su sistema de detección amplifica la luz desde la muestra y determina su absorbancia. De esta manera al medir la absorbancia de las bacterias se obtienen los siguientes valores que representaría la inhibición de las bacterias en cada una de las muestras (Tabla 1).

Muestras	Absorbancia (U.A.)		Solución (%)	Volumen (μL)	Concentración final (%)
	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>			
Control (-)	0.177	0.195	-	-	-
Hipoclorito	-0.001	-0.001	5.25	500	1.87
	0.006	0.007	2.5	500	1.14
Té Verde	0.038	0.006	100	500	35.61
	0.028	0.005	80	400	30.67
	0.013	0.004	60	300	24.92
	0.003	-0.001	40	200	18.12
	0.006	0.004	20	100	9.96
	0.005	0	10	50	5.24
	0.006	0.002	5	25	2.69
	-0.001	0.005	2	10	1.09
Control (+)	0	0	35	500	12.45

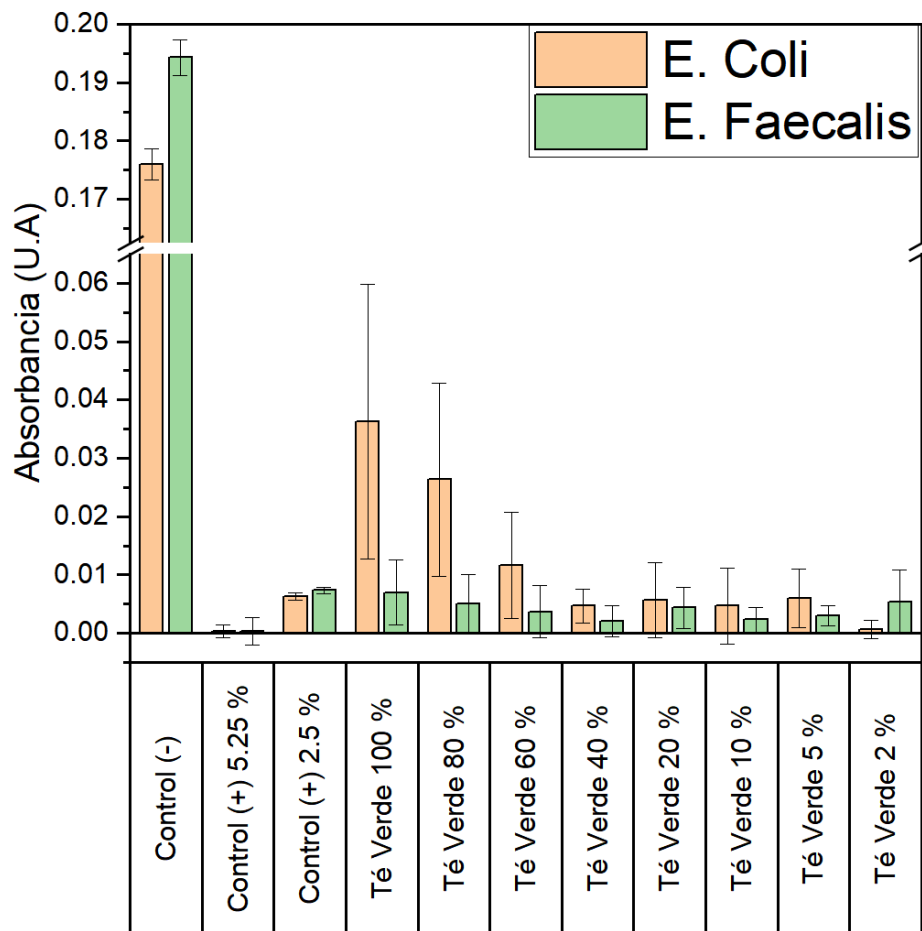
Tabla 1, Resultados de las lecturas de espectros de absorbancia de las microdiluciones

9.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La prueba de análisis estadístico (ANOVA) nos muestra un resultado significativo, en el control negativo nos muestra un crecimiento bacteriano con una absorbancia mayor al 0.15 U.A. , en el control positivo tuvimos de referencia al hipoclorito de sodio en sus distintas concentraciones (5.25% y 2.5%) ya que la evidencia científica nos muestra que el hipoclorito es el irrigante ideal para todo tratamiento de conductos, a la concentración de 5.25% se obtuvo un crecimiento nulo de bacterias y en cuanto a la concentración al 2.5% se obtuvo una absorbancia del 0.1 U.A. en ambas bacterias.

De acuerdo a la gráfica 1, obtenida para la comparación de los resultados, nos muestra el control negativo que fue utilizado para observar el crecimiento total de las

bacterias. En el control positivo utilizado con el hipoclorito de sodio en sus dos concentraciones (5.25 y 2.5%) se observó el resultado esperado, un nulo crecimiento de bacterias en la concentración de 5.25%. En cuanto al extracto de té verde se observa que presentó inhibición bacteriana en todas sus concentraciones, sin embargo, se logró observar que a una baja concentración del extracto mayor inhibición, fue a una concentración del 100% donde se mostró mayor actividad bacteriana para ambas bacterias siendo más notorio para *E. coli* y a una concentración del 2% presentó una mayor inhibición similar al hipoclorito a. 5.25% y en cuanto a la *E. faecalis* al 40% presento mayor inhibición.



Grafica 1, Comparación de los resultados

X. DISCUSIÓN

De acuerdo a las grandes desventajas por el NaOCl, el aumento de las cepas resistentes a los antibióticos y los efectos secundarios causados por los medicamentos sintéticos han impulsado a los investigadores a buscar alternativas a base de plantas. Recientemente, *Murray et al*, evaluaron el jugo de *Moringa citrifolia* junto con el EDTA como posible alternativa al NaOCl (31). *Sakanaka et al*, ha informado que los extractos de té verde japones tienen una acción antibacteriana contra el *Streptococcus mutans* además, se han informado recientemente que tienen una acción antibacteriana contra diversas bacterias que habitan en los intestinos y bacterias de los conductos radiculares, Además Nishiyama y Kozaki informo que él té verde presenta polifenoles como lo es la catequina teniendo gran poder antibacteriano contra bacterias lácticas y sugirieron que algún tipo de polifenol estaba implicando la inhibición del crecimiento bacteriano (32).

Andiara et al, en el año 2021 utilizaron el epigalocatequina-3-galato para estudiar la formulación como uso endodóntico evaluando sus propiedades fisicoquímicas y biológicas, el cual obtuvieron como resultado que la caracterización fisicoquímica realizada bajo espectrofotometría ultravioleta visible mostró que las propiedades permanecían inalteradas en función al pH ácido, no mostraban necrosis tisular cuando lo exponían algún tejido, edema o vascularización (35).

El presente estudio experimental determinó que un extracto a base de té verde promueve actividad antimicrobiana mediante el método de microdilución utilizando una bacteria gramnegativa como es el caso de la *E. coli* y una grampositiva como lo es la *E. faecalis* mediante una lectura de espectroscopia UV-Vis.

Los resultados permitieron determinar que a una baja cantidad del extracto de té verde promueve mayor actividad antimicrobiana que un alto índice de concentración, en este estudio se observó una relevancia significativa del extracto de té verde a una concentración > 80%, sin embargo, se aprecia que hubo mayor actividad antimicrobiana a una dilución de 10 μ L (2%) para *E. coli* y *E. faecalis* a una dilución de 200 μ L (40%). No se observó una diferencia significativa entre los controles 5.25 y 2.5% de NaOCl tal como se muestra en la gráfica anterior.

De acuerdo a las diferencias en los porcentajes de las concentraciones que se requiere del extracto del té verde para que exista una inhibición bacteriana aceptable se puede deducir que es en base al comportamiento y características en cada tipo de bacteria ya que se utilizó en este estudio una bacteria grampositiva (*E. faecalis*) donde su característica principal es la presencia de una sola membrana y una gramnegativa (*E. coli*) donde se requiere una doble membrana que rodea el medio extracelular (39).

Con este estudio se pretende dar una alternativa herbolaria para la sustitución del uso del hipoclorito de sodio, sin embargo, no cambiar el protocolo de irrigación en el tratamiento de conductos el cual de acuerdo a la literatura nos lo indica; irrigar utilizando cantidades copiosas de hipoclorito de sodio, activar el irrigante, lavar con agua bidestilada, seleccionar la solución de irrigación para el manejo de la capa de barillo dentinario y por último la irrigación final nuevamente con agua bidestilada (25).

Debido a los resultados anteriores podemos considerar el uso del extracto de té verde como irrigante herbolaria y remplazarlo por el uso del NaOCl al 2.5%. Se requiere de mayor estudios y trabajo a futuro para poder considerar remplazar el NaOCl al 5.25% ya que este estudio arroja que continúa siendo más eficaz esta concentración

y que la actividad antimicrobiana es nula. Esto se presenta debido al mecanismo de acción del hipoclorito, presenta una reacción química en contacto con la materia orgánica, la solución produce glicerol y jabón (reacción de saponificación) y actúa como disolvente de grasas degradando los ácidos grasos. Además, se forma ácido hipocloroso con reducción del pH y formación de cloraminas (reacción de cloraminación), dañando la membrana celular observándose la desnaturalización de las proteínas y daños en el ADN (40).

XI. CONCLUSIONES

- El análisis estadístico nos muestra una diferencia estadísticamente significativa en la dilución de 200 μ L (40%) para la bacteria *E. faecalis* y en la dilución de 10 μ L (5%) para la bacteria *E. coli*.
- No existe relevancia significativa entre el hipoclorito al 2.5% y el extracto de té verde en la bacteria *E. faecalis*.
- Se requiere una dilución de 200 μ L (40%) o menor para una inhibición bacteriana óptima para la *E. coli*.
- El hipoclorito al 5.25% se sigue considerando como la concentración más óptima para la inhibición bacteriana total.

XII. RECOMENDACIONES

- Evaluar la actividad antiadherente del extracto de té verde contra los microorganismos.
- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto de té verde contra el Biofilm en órganos dentarios.
- Evaluar la profundidad de penetración del extracto de té verde en los túbulos dentinarios.
- Evaluar si existe alguna alteración en las propiedades del extracto de té verde en una activación sónica y ultrasónica.
- Evaluar si el extracto de té verde posee propiedades descalcificantes.
- Evaluar si existe alguna interacción entre el extracto de té verde con el hipoclorito de sodio o ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).
- Realizar ensayos para evaluar la citotoxicidad en cultivos celulares.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. American Association of Endodontists. Glossary of Endodontic Terms 2016. *Gloss Endod Terms*. 2015;9:43.
2. Chubb DWR. A review of the prognostic value of irrigation on root canal treatment success. *Aust Endod J*. 2019;45(1):5–11.
3. Dotto L, Sarkis Onofre R, Bacchi A, Rocha Pereira GK. Effect of Root Canal Irrigants on the Mechanical Properties of Endodontically Treated Teeth: A Scoping Review. *J Endod* [Internet]. 2020;46(5):596-604.e3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.01.017>
4. Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation - Literature review and case reports. *Int Endod J*. 2000;33(3):186–93.
5. Cavalli D, Toia CC, Flores Orozco EI, Khoury RD, Cardoso FG da R, Alves MC, et al. Effectiveness in the Removal of Endotoxins and Microbiological Profile in Primary Endodontic Infections Using 3 Different Instrumentation Systems: A Randomized Clinical Study. *J Endod*. 2017;43(8):1237–45.
6. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics—Current status and future directions. *Int J Mol Sci*. 2017;18(8).
7. Garcia-Font M, Abella F, Patel S, Rodríguez M, González Sanchez JA, Duran-Sindreu F. Cone-beam Computed Tomographic Analysis to Detect the Association between Primary and Secondary Endodontic Infections and Mucosal Thickness of Maxillary Sinus. *J Endod*. 2020;46(9):1235–40.

8. Zehnder M. Root Canal Irrigants. *J Endod*. 2006;32(5):389–98.
9. Sasanakul P, Ampornaramveth RS, Chivatxaranukul P. Influence of Adjuncts to Irrigation in the Disinfection of Large Root Canals. *J Endod* [Internet]. 2019;45(3):332–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.11.015>
10. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*. 2002;28(1):12–55.
11. Cardoso FG da R, Martinho FC, Ferreira N de S, do Prado RF, Manhães-Júnior LRC, Rocco MA, et al. Correlation between volume of root canal, cultivable bacteria, bacterial complexes and endotoxins in primary infection. *Braz Dent J*. 2019;30(2):117–22.
12. Meneses CCB, Pizzatto LN, Andrade FFF, Sipert CR. Prostaglandin E2 Affects Interleukin 6 and Monocyte Chemoattractant Protein 1/CCL2 Production by Cultured Stem Cells of Apical Papilla. *J Endod* [Internet]. 2020;46(3):413–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.12.001>
13. Valera MC, Da Rosa JA, Maekawa LE, De Oliveira LD, Carvalho CAT, Koga-Ito CY, et al. Action of propolis and medications against *Escherichia coli* and endotoxin in root canals. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2010;110(4):e70–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.01.029>
14. Hargreaves KM. Pathways of the pulp. Vol. 52, *Dental hygiene*. 1978. 113–117 p.

15. Olesen B. Characterization of four *Escherichia coli* clonal groups. *Apmis*. 2017;125(August):1–28.
16. Maekawa LE, Valera MC, de Oliveira LD, Carvalho CAT, Koga-Ito CY, Jorge AOC. In vitro evaluation of the action of irrigating solutions associated with intracanal medications on *Escherichia coli* and its endotoxin in root canals. *J Appl Oral Sci*. 2011;19(2):106–11.
17. Marinho ACS, To TT, Darveau RP, Gomes BPFA. Detection and function of lipopolysaccharide and its purified lipid A after treatment with auxiliary chemical substances and calcium hydroxide dressings used in root canal treatment. *Int Endod J*. 2018;51(10):1118–29.
18. Keogh D, Lam LN, Doyle LE, Matysik A, Pavagadhi S, Umashankar S, et al. Extracellular electron transfer powers *Enterococcus faecalis* biofilm metabolism. *MBio*. 2018;9(2):1–16.
19. Rocas I, Siquera J, Santos K. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular. *J Endod*. 2004;30(19):315–20.
20. Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm Formation of Oral and Endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2007;33(7):815–8.
21. Kranz S, Guellmar A, Braeutigam F, Tonndorf-Martini S, Heyder M, Reise M, et al. Antibacterial effect of endodontic disinfections on *enterococcus faecalis* in dental root canals—an in-vitro model study. *Materials (Basel)*. 2021;14(9).

22. Xu J, He J, Shen Y, Zhou X, Huang D, Gao Y, et al. Influence of Endodontic Procedure on the Adherence of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* [Internet]. 2019;45(7):943–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.04.006>
23. Sedgley CM. *The Root Canal Bio Im.*
24. Kajwadkar R, Shin JM, Lin GH, Fenno JC, Rickard AH, Kapila YL. High-purity Nisin Alone or in Combination with Sodium Hypochlorite Is Effective against Planktonic and Biofilm Populations of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* [Internet]. 2017;43(6):989–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.034>
25. Bermann LH. *Cohen's Pathways of the Pulp. Cohen's Pathways Pulp.* 2015;
26. Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod.* 1992;18(12):605–12.
27. Trautmann E, Attin T, Mohn D, Zehnder M. Hydrogen Peroxide Versus Sodium Hypochlorite: All a Matter of pH? *J Endod* [Internet]. 2021;47(2):297–302. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.10.016>
28. Türkün M. Stability of various sodium hypochlorite solutions. *J Endod.* 1995;21(5):253–5.
29. Guivarc'h M, Ordioni U, Ahmed HMA, Cohen S, Catherine JH, Bukiet F. Sodium Hypochlorite Accident: A Systematic Review. *J Endod.* 2017;43(1):16–24.
30. Goswami M, Chhabra N, Kumar G, Verma M, Chhabra A. Sodium hypochlorite dental accidents. *Paediatr Int Child Health.* 2014;34(1):66–9.

31. Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya MS, Mahalakshmi K, Sehgal PK, Sukumaran VG. Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Herbal Alternatives (Triphala and Green Tea Polyphenols), MTAD, and 5% Sodium Hypochlorite against *Enterococcus faecalis* Biofilm Formed on Tooth Substrate: An In Vitro Study. *J Endod* [Internet]. 2010;36(1):83–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.040>
32. Horiba N, Maekawa Y, Ito M, Matsumoto T, Nakamura H. A pilot study of Japanese green tea as a medicament: Antibacterial and bactericidal effects. *J Endod*. 1991;17(3):122–4.
33. Lee YL, Hong CY, Kok SH, Hou KL, Lin YT, Chen MH, et al. An Extract of Green Tea, Epigallocatechin-3-Gallate, Reduces Periapical Lesions by Inhibiting Cysteine-rich 61 Expression in Osteoblasts. *J Endod* [Internet]. 2009;35(2):206–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.11.015>
34. Hwang JY, Choi SC, Park JH, Kang SW. The use of green tea extract as a storage medium for the avulsed tooth. *J Endod* [Internet]. 2011;37(7):962–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.03.028>
35. De Rossi A, Araújo Ferreira DC, Liévana FS, Vilela MM, Nelson-Filho P, da Silva RS, et al. An Epigallocatechin-3-gallate Formulation Developed for Endodontic Use: A Physicochemical and Biological Evaluation. *J Endod*. 2021;47(10):1640–50.
36. Vilela MM, Salvador SL, Teixeira IGL, Del Arco MCG, De Rossi A. Efficacy of green tea and its extract, epigallocatechin-3-gallate, in the reduction of cariogenic

- microbiota in children: a randomized clinical trial. Arch Oral Biol [Internet]. 2020;114(December 2019):104727. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104727>
37. Xu X, Zhou XD, Wu CD. The tea catechin epigallocatechin gallate suppresses cariogenic virulence factors of Streptococcus mutans. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(3):1229–36.
38. Thawre S, Joshi R, Bhardwaj SB, Bhushan J. Comparison of the antibacterial efficacy of teatree oil, nisin and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis. Mater Today Proc [Internet]. 2020;28:1477–80. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.04.824>
39. Cabañas-romero PV, Huerta-saquero A. Nanomáquinas biológicas : los sistemas de secreción bacterianos. 2003;28–36.
40. Kenneth M. Hargreves LHB. Cohen Vias de la Pulpa 11 edición. 11AD;3612.