

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA *Enterococcus Faecalis*. DE LA NANOPARTÍCULA BIOSPADA 60. VS NaOCL AL 5.25% EN TUBOS DE DENTINA, ESTUDIO IN VITRO**

**ANTIMICROBIAL EFFECTIVENESS AGAINST *Enterococcus Faecalis*. OF THE BIOSPADA 60 NANOPARTICLE. VS 5.25% NaOCL IN DENTIN TUBES, IN VITRO STUDY**

Manjarres Rebolledo Anna Karina\*, Penagos Leyton César\*\*, Velasco Flechas Gustavo Adolfo\*\*\*, Aguilera Rojas Sandra Elizabeth \*\*\*\*

\* Odontóloga, Residente especialización en endodoncia 2022 – UNICOC-Bogotá

\*\* Odontólogo, Residente especialización en endodoncia 2022 – UNICOC-Bogotá

\*\*\* Odontólogo, Especialista en Endodoncia Universidad Nacional, Asesor Científico

\*\*\*\* Odontóloga, Maestría Ciencias Básicas Biomédicas y Especialista en Semiología y Cirugía Oral. Asesor metodológico.

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA *Enterococcus Faecalis*. DE LA NANOPARTÍCULA BIOSPADA 60. VS NaOCL AL 5.25% EN TUBOS DE DENTINA, ESTUDIO IN VITRO**

**ANTIMICROBIAL EFFECTIVENESS AGAINST *Enterococcus Faecalis*. OF THE BIOSPADA 60 NANOPARTICLE. VS 5.25% NaOCL IN DENTIN TUBES, IN VITRO STUDY**

**Manjarres Rebolledo Anna Karina\*, Penagos Leyton César\*\*,**

La presencia de microorganismos y sus subproductos son la principal causa de enfermedades pulpares, peri radiculares y fracaso de los tratamientos endodónticos. La resistencia de ciertos microorganismos junto con la compleja anatomía del conducto radicular dificulta la eliminación completa de las bacterias. El *Enterococcus Faecalis*. Como bacteria anaeróbica facultativa se relaciona con enfermedades de origen endodóntico primarias y secundarias. El objetivo del presente trabajo fue establecer la efectividad antimicrobiana in vitro de la nanopartícula Biospada 60 vs NaOCl al 5.25%, como agentes irrigantes en el sistema de conductos radiculares utilizando una cepa de *Enterococcus Faecalis*.

Método: estudio experimental in vitro, cuya muestra obedeció a 40 tubos de dentina de 10mm de longitud los cuales fueron inoculados con 10-6 ml bacterias *Enterococcus Faecalis*. incubados por 20 días. La muestra se dividió en 4 grupos; Irrigación con Hipoclorito de Sodio al 5,25% (grupo A), Biospada 60 (grupo B), Hipoclorito de sodio al 5,25% alternado con Biospada 60 (grupo C) y grupo control sin irrigación (grupo D). La muestra se extrajo usando una lima No 70 y mediante agitación mecánica con vórtex. Los detritos obtenidos se cultivaron en agar sangre por 8 días para realizar el recuento de UFC. Resultados: El grupo irrigado con hipoclorito de sodio al 5,25% no presentó UFC mientras que la combinación de hipoclorito de sodio al 5,25% + Biospada mostro un total de 483 UFC. Biospada 60 como irrigante único arrojó un total de 1938 UFC. Conclusiones: Biospada 60 presentó efectividad bactericida moderada contra el *Enterococcus Faecalis*., y no superó la del hipoclorito de sodio al 5,25%, que sigue siendo considerado el Gold estándar dada su capacidad bactericida

Palabras clave: Biospada 60, *Enterococcus Faecalis*., Hipoclorito de sodio, Irrigante endodóntico.

The presence of microorganisms and their byproducts are the main cause of pulp and periradicular diseases and failure of endodontic treatments. The resistance of certain microorganisms together with the complex anatomy of the root canal makes it difficult to completely eliminate the bacteria. *Enterococcus Faecalis*. as a facultative anaerobic bacterium is related to diseases of primary and secondary endodontic

origin. The objective of this work was to establish the in vitro antimicrobial effectiveness of the Biospada 60 nanoparticle vs. 5.25% NaOCL, as irrigating agents in the root canal system using a strain of *Enterococcus Faecalis*. Method: experimental in vitro study, whose sample obeyed 40 dentin tubes of 10mm length which were inoculated with  $10^{-6}$  ml *Enterococcus Faecalis*. Bacteria and incubated for 20 days. The sample was divided into 4 groups; Irrigation with 5.25% Sodium Hypochlorite (group A), Biospada 60 (group B), 5.25% sodium hypochlorite alternated with Biospada 60 (group C) and control group without irrigation (group D). The sample was extracted using a No. 70 file and by mechanical vortexing. The debris obtained was cultured on blood agar for 8 days to perform the CFU count. Results: The group irrigated with 5.25% sodium hypochlorite did not present CFU while the combination of 5.25% sodium hypochlorite + Biospada showed a total of 483 CFU. Biospada 60 as the only irrigant yielded a total of 1938 CFU. Conclusions: Biospada 60 presented moderate bactericidal effectiveness against *Enterococcus Faecalis*, and did not exceed that of 5.25% sodium hypochlorite, which is still considered the gold standard given its bactericidal capacity.

Key words: Biospada 60, *Enterococcus Faecalis*., Sodium hypochlorite, Endodontic irrigant.

\* Odontóloga, Residente especialización en endodoncia 2022 – UNICOC-Bogotá

\*\* Odontólogo, Residente especialización en endodoncia 2022 – UNICOC-Bogotá

## Introducción

La presencia de microorganismos y sus subproductos son la principal causa de enfermedades pulpares, peri radicular y fracaso de los tratamientos endodónticos (1). La desinfección durante la terapia endodóntica se consigue por dos medios: limpieza mecánica y química, con instrumentos y soluciones antimicrobianas. Sin embargo, a pesar de las diversas estrategias de preparación y limpieza, queda un porcentaje significativo de tejido intacto (2). Estas áreas no alcanzadas, pueden alojar microorganismos impidiendo la acción de los agentes utilizados en el proceso de desinfección del conducto radicular (1). El origen de la infección endodóntica comienza con la aparición de la caries dental, la cual genera la destrucción de esmalte y dentina dando como resultado una invasión bacteriana que alcanza la pulpa y las áreas periapicales, misma que puede llegar a desarrollar un absceso dentoalveolar y la posterior diseminación de la infección a otras áreas anatómicas (3). La infección primaria se genera a partir de bacterias aerobias y anaerobias capaces de producir ácidos que generan daño tisular, principalmente al tejido mineralizado. Los microorganismos más comunes son: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces*(3).

El *Enterococcus Faecalis*.es el microorganismo más aislado que se presenta con mayor frecuencia en los casos de fracaso de la terapia endodóntica, pues tiene la

capacidad de penetrar y sobrevivir dentro de los túbulos dentinales y formar una biopelícula en las paredes del conducto radicular. Es capaz de penetrar el túbulo dentinal cerca de la pulpa y de la unión esmalte/cemento, entre 0.95 y 2,5 mm (4). La prevalencia del microorganismo en este tipo de infecciones oscila entre el 24% y el 77% (5). Este hallazgo puede explicarse por varios factores de supervivencia y virulencia que posee el *Enterococcus Faecalis.*, incluida su capacidad para competir con otros microorganismos para invadir los túbulos dentinarios y resistir la privación nutricional (5).

La irrigación del conducto radicular de una pieza dental durante el tratamiento endodóntico, tiene como propósito eliminar el tejido pulpar vital o necrótico, restos de dentina, microorganismos y sus subproductos, además de lubricar las paredes del tejido radicular (6). El hipoclorito de sodio (NaOCl) es la opción preferida por los profesionales de la salud oral, por su eficaz acción antibacteriana y la capacidad de disolver los restos de tejido. Se ha establecido que el efecto bactericida, oscilan entre el 0,5% y el 6% (2). Como efecto no deseable, entre más alta sea la concentración del NaOCl es más citotóxico y mayor será su capacidad para afectar los tejidos del diente en especial la dentina (7). Por otro lado, la utilización de nanopartículas (NP's) de materiales naturales y sintéticos está evolucionando rápidamente en la odontología. Estos biomateriales han ayudado en el tratamiento de enfermedades orales, en la erradicación de la capa de barrillo dentinario y de las biopelículas. También se incorporan a diversos materiales dentales por sus efectos antimicrobianos y otros aspectos beneficiosos. Estas nanopartículas proporcionarán

un nuevo cambio de paradigma en la odontología (8).

Biospada es una molécula de cloruro de benzalconio modificada con nanotecnología, comercializada como desinfectante con un gran efecto antibacteriano, virucida y efecto de sustentividad (según su comercializadora). Resulta necesario e interesante conocer el comportamiento de dicho agente como irrigante de endodoncia de manera individual o como coadyuvante del hipoclorito de sodio en la desinfección del conducto radicular, motivo por el cual se desarrolla el presente estudio.

## **Método**

Se realizó un estudio experimental in vitro en el centro de investigación odontológica de la Universidad Javeriana con el apoyo del profesional en bacteriología Jean Carlos Villamil Poveda.

La muestra obedeció a n=40 tubos de dentina de premolares humanos extraídos por indicaciones ortodónticas con ápices radiculares completamente formadas de individuos de entre 16 a 26 años con previo consentimiento por parte del especialista o IPS que los suministró, los cuales fueron trasladados en un medio de transporte: Timol al 0,2% para luego ser irrigados con solución salina. Posteriormente fueron inmersos por un tiempo de 15 minutos en solución de hipoclorito de sodio al 5,25% con el fin de desinfectar la pieza dental y remover cualquier vestigio de restos de tejido orgánico para el posterior estudio.

Se realizó la preparación de espécimen (40 tubos de dentina), se decoronó el diente y se eliminó ápice con disco de carburo conservando una longitud promedio de los tubos de dentina de 10 mm. Posteriormente, se permeabilizó el conducto radicular con lima tipo k preserie No. 10 y se preparó hasta lima No. 60, conicidad 0,02% utilizando instrumentos manuales (Flexo Files, Dentsply Maillefer). Luego, se continuó con fresa passo No 1 y No 2. Después de la instrumentación, todos los conductos radiculares se irrigaron con 1 ml de solución salina para inactivar la acción del NaOCL hipoclorito de sodio y se esterilizaron en auto clave a 30 psi, 121°

C por 30 minutos.

Se realizó sellado en tercio apical con ionómero de vidrio. Posteriormente, se llevó a inoculación con  $10^{-6}$  ml de la cepa *Enterococcus Faecalis* la cual fue proporcionada por el Centro de Investigaciones Odontológicas CIO, el vial congelado a -80, que contenía el microorganismo fue descongelado a temperatura ambiente y se transfirió el contenido a 5 ml de caldo BHI y se incubó a 37°C por 24 horas.

A partir del crecimiento bacteriano obtenido en el caldo, se tomaron aproximadamente 10 ul, se depositaron en una placa de agar sangre y se sembró por agotamiento, la placa se incubó a 37°C por 24 horas, transcurrido el tiempo de incubación se verificó pureza del cultivo por medio de morfología colonial y coloración de Gram.

Para la formación del Biofilm en los tubos de dentina. Se dio, a partir del crecimiento bacteriano de *Enterococcus Faecalis* en agar sangre, se tomaron UFC y depositaron en 10 ml de caldo BHI, hasta llegar a una turbidez 0,5 de MacFarland, los tubos de dentina se depositaron en los 10 ml de BHI que contenía la suspensión bacteriana e incubaron a 37°C, cada tercer día se hizo recambio de medio, se retiraron 5 ml y pusieron 5ml de BHI nuevo hasta completar 21 días en la incubadora L-C INCUBATOR/LAB-LINE, se llevó a cabo todo el procedimiento en la cabina de seguridad biológica clase II tipo 2-a, adecuadas para la manipulación de citostáticos

de acuerdo a la norma NSF49 standard y también cumpliendo con las siguientes normativas internacionales: ISO9001 ISO14001 ISO13485 CE, generando protección al personal, al producto y al ambiente.

Se realizó, la dilución del agente BIOSPADA 60 con el fin de bajar la concentración de la nanopartícula (trimethoxysilyl) propyl dimethyl octadecyl ammonium chloride 0.75% al 0,008% con la formula  $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$ . Después, se estabilizo cada tubo de dentina en gradillas para muestras de laboratorio y se realizaron los protocolos de irrigación. La muestra se dividió en cuatro grupos (A-D):

Para GRUPO A: a los tubos de dentina inoculados se les realizó irrigación total con 40 ml de hipoclorito de sodio NaOCL al 5.25% con aguja gauge 27 apertura lateral (ENDO EZE Ultradent®), una por cada espécimen. Se realizó activación con equipo sónico por un minuto con puntas endoactivator No. 25 por cada 5 ml aplicados, succionando los excesos con pipeta.

Para el GRUPO B: a los tubos de dentina inoculados se les realizó irrigación total con 40 ml de solución de Biospada (trimethoxysilyl) propyl dimethyl octadecyl ammonium chloride 0.008% con aguja gauge 27 apertura lateral (ENDO EZE Ultradent®) una por cada espécimen. Se realizó activación con equipo sónico por un minuto con puntas endoactivator No. 25 por cada 5 ml aplicados, succionando los excesos con pipeta.

Para GRUPO C: Se realizó irrigación total con 40 ml de hipoclorito de sodio NaOCL al 5.25%, alternado con BIOESPADA 60 de (trimethoxysilyl) propyl dimethyl octadecyl ammonium chloride 0.008% (20 ml por cada solución irrigante). Con aguja gauge 27 apertura lateral (ENDO EZE Ultradent®) una por cada espécimen. Se realizó activación con equipo sónico para cada solución irrigante, por un minuto con puntas endoactivator No. 25 por cada 5 ml aplicados de hipoclorito de sodio, luego se inactivo con 1 ml de PBS (solución salina) para continuar con 5 ml de la solución irrigante BIOESPADA 60 y activación con equipo sónico por un minuto. Hasta completar los 40 ml totales de soluciones irrigantes. succionando los excesos con pipeta.

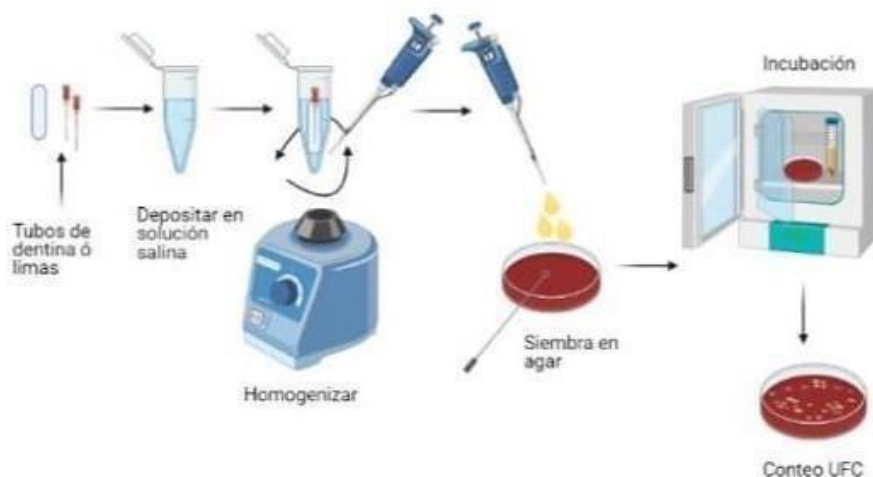
El GRUPO D: representó los controles positivos de estudio que fueron inoculados con la cepa *Enterococcus Faecalis*. Durante dos semanas sumergidos en el caldo de cultivo.

Finalmente, se extrajo cada muestra con limas tipo k No. 70 (Flexo Files, Dentsply Maillefer) y simultáneamente se evaluó el tubo de dentina mediante agitación mecánica con vórtex para posterior cultivo en agar sangre por 8 días que permitió determinar crecimiento bacteriano a las 48 horas a una temperatura de 37° y obtener el recuento de unidad formadora de colonia (UFC).

Para el procedimiento, por medio de pinzas algodonerías se transfirió cada lima un tubo eppendorf de 1,5 ml que contenía 1 ml de PBS y un tubo de dentina un tubo

ependorf de 1,5 ml que contenía 1 ml de PBS. Cada tubo se homogenizó por un minuto en vortex, con la finalidad de desprender las bacterias que estuviesen adheridas a la superficie de la lima y para favorecer la salida de los microorganismos que pudiesen estar presentes en la morfología interna del sistema del conducto radicular de cada tubo de dentina. Se tomaron 0.1 ml (100µl) y se depositaron en una placa de agar sangre. Con ayuda de un rastrillo el volumen depositado fue esparcido homogéneamente sobre la superficie del agar. A continuación, las placas se incubaron a 37°C por 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, las placas de agar se retiraron de la incubadora y se observó si hubo o no crecimiento microbiano; en caso de crecimiento positivo se realizó el recuento de UFC. Para el grupo control se realizaron diluciones seriadas en base 10 (10-1, 10-2, 10-3, 10-4).

Esquema 1. Protocolo recopilación demuestras. Fuente autores



## Resultados

En este estudio in vitro se quiso analizar un irrigante diferente a los convencionales en el proceso de desinfección de conductos radiculares, el cual se denomina BIOESPADA 60, con el fin de observar su eficacia antibacteriana y compararlo con el Hipoclorito de sodio al 5,25%. Además, de ser coadyuvante en el proceso de irrigación.

Fue posible observar que la totalidad de UFC del *Enterococcus Faecalis*. fue erradicada por el hipoclorito de sodio al 5,25% tanto en la muestra de detrito obtenida de la lima como en el tubo de dentina, seguidamente, el irrigante que menor recuento presentó fue la combinación de hipoclorito de sodio al 5,25% + Biospada con un recuento de 483 UFC recolectada del tubo de dentina, lo que obedece al 0,001% al ser comparado con el UFC total del grupo control (n=43.300.000) (Ver tabla 1).

Tabla 1. Conteo UFC

Conteo UFC							
Muestra	Control	Hipoclorito (Lima)	Hipoclorito (tubo)	Bioespada (Lima)	Bioespada (Tubo)	Hipo+Bio (Lima)	Hipo+Bio (tubo)
R1	6900000	0	0	0	67	0	0
R2	3800000	0	0	0	4	0	0
R3	2200000	0	0	0	1	0	0
R4	7200000	0	0	0	2	0	1
R5	5400000	0	0	0	4	0	0
R6	2300000	0	0	1	0	0	0
R7	3300000	0	0	132	128	0	34
R8	4100000	0	0	91	420	0	4
R9	3600000	0	0	676	505	0	116
R10	4500000	0	0	1652	807	0	328
<b>TOTAL</b>	<b>43300000</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2552</b>	<b>1938</b>	<b>0</b>	<b>483</b>

Recuento de unidades formadora de colonia de *E. faecalis* tras al uso del hipoclorito de sodio al 5,25%, la Bioespada y la combinación de ambos como irrigante endodónticos.

Finalmente, el uso de biospada 60 como irrigante endodóntico de manera individual, aunque demostró la capacidad de eliminar el *Enterococcus Faecalis.*, fue el que mayor conteo de UFC obtuvo después del proceso de irrigación, encontrando un total de 1938 UFC en el tubo de dentina (0,004%) y 2552 UFC en la muestra de lima (0,005%).

Adicionalmente, el grupo control se evidencia la cantidad de UFC identificadas en cada tubo de dentina (Ver figura 1).

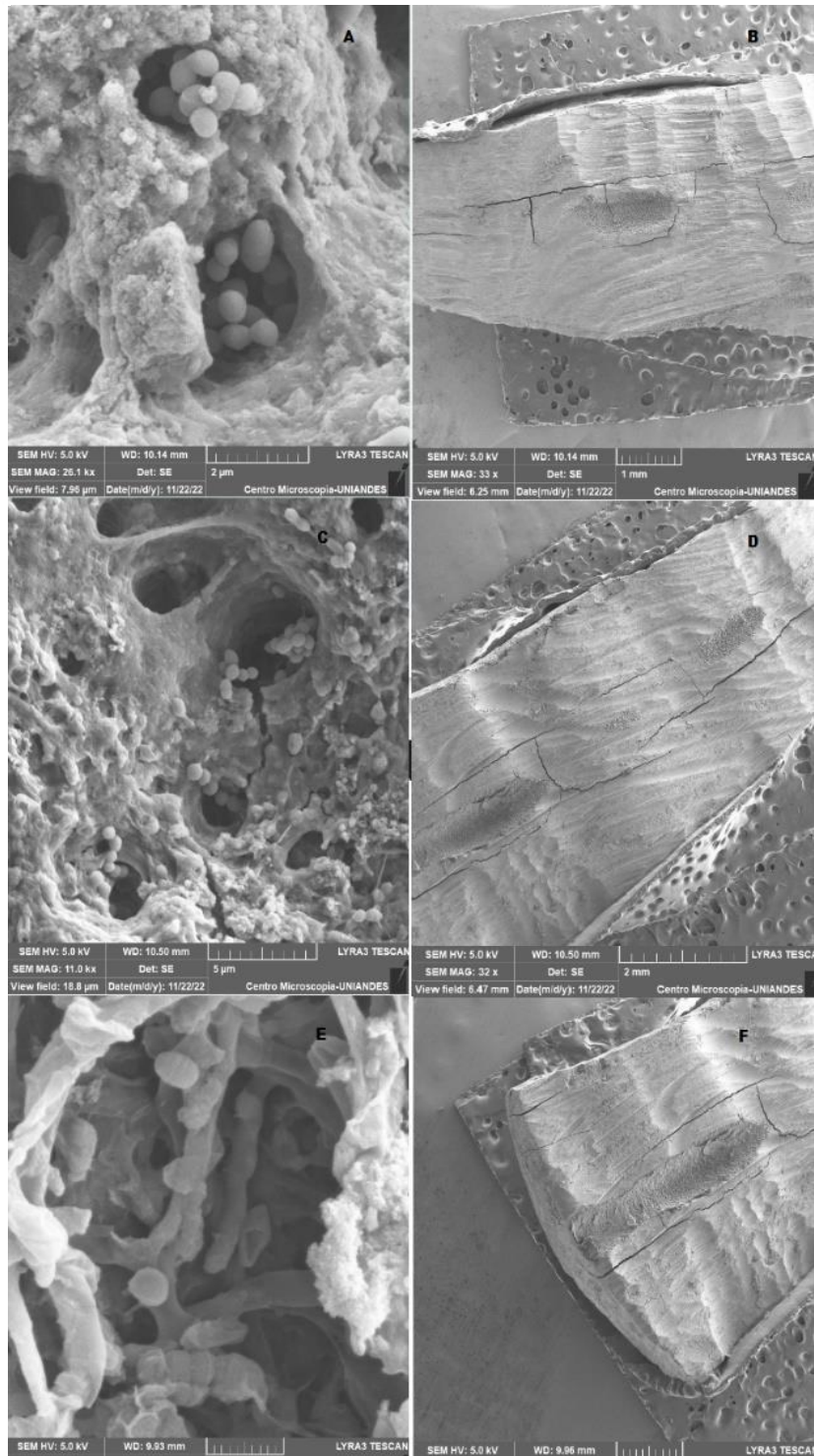


Figura 1. Tubo de dentina correspondiente al grupo control en el cual no fue aplicado

ningún irrigante donde se puede apreciar el crecimiento bacteriano del *Enterococcus Faecalis*. (A) Tercio apical del tubo de dentina ampliada al 26,1 kx. Tercio apical de tubo de dentina ampliada al 33 x. (C) Tercio medio de tubo de dentina ampliado al 11,0 kx (D) Tercio medio de tubo de dentina ampliado al 32 x (E) Tercio cervical de tubo de dentina ampliado al 39,2 kx (F) Tercio cervical de tubo de dentina ampliado al 34x. Scanning Electron Microscope (SEM) obtenidas del Microscopio de haz de iones focalizado –Tescan (modelo Lyra 3).

**Tabla 2.** Análisis descriptivo del UFC

Análisis descriptivo					
Irrigante*	N	Median**	SD***	Minimum	Maximum
Hipoclorito (Lima)	10	0.000	0	0	0
Hipoclorito (tubo)	10	0.000	0	0	0
Bioespada (Lima)	10	0.500	533	0	1652
Bioespada (Tubo)	10	35.500	284	0	807
Hipo+Bio (Lima)	10	0.000	0	0	0
Hipo+Bio (tubo)	10	0.500	105	0	328

Análisis descriptivo de las variables mediante medidas de tendencia central con un 95% de intervalo de confianza. (\*) Irrigante: sustancia utilizada como complemento en el tratamiento de conducto por su capacidad bactericida. (\*\*) Media: medida de tendencia central. (\*\*\*) SD: desviación estándar de la media.

De acuerdo al análisis descriptivo de los irrigantes utilizados, es posible mencionar que el conteo de UFC de *Enterococcus Faecalis*. Hallado después de la irrigación con Hipoclorito de sodio al 5,25% +Biospada de la muestra de tubo de dentina arrojó una media de 0,50 con desviación estándar de  $\pm 105$ , arrojando los resultados óptimos en cuanto a la capacidad bactericida con un 95% de intervalo de confianza.

Por otro lado, se realizó la comparación de la efectividad antibacteriana de los irrigantes utilizados en el proceso de desinfección de conductos contra el *Enterococcus Faecalis*. Mediante el conteo de UFC presente después de la irrigación para cada uno de los grupos

Tabla 3. Comparación entre irrigantes

<b>Comparación de irrigantes</b>					
<b>Irrigantes</b>		<b>Tipo de prueba</b>	<b>statistic</b>	<b>DF</b>	<b>P</b>
Hipoclorito (Lima)	Bioespada (Lima)	Student's t	-1.51	9.00	0.165
Hipoclorito (tubo)	Bioespada (Tubo)	Student's t	-2.15	9.00	0.060
Hipoclorito (Lima)	Hipo+Bio (Lima)	Student's t	NaN	9.00	NaN
Hipoclorito (tubo)	Hipo+Bio (tubo)	Student's t	-1.46	9.00	0.179

Comparación de irrigantes mediante la prueba de T-student de muestras pareadas

Se evidenció, que al ser comparados el hipoclorito de sodio al 5,25% frente a la Biospada 60 tanto en la muestra recolectada de la lima como la de los tubos de dentina (con la agitación mecánica, a través del Vortex), el Hipoclorito de sodio logro eliminar la totalidad de microorganismos, al igual que al ser comparado el hipoclorito de sodio frente a la combinación de Hipoclorito + Biospada, no obstante; estos resultados no mostraron significancia estadística, arrojando valores de p superiores a 0,05.

## Discusión

La presente investigación in vitro utilizó 4 grupos de 10 tubos de dentina cada uno para analizar la efectividad antibacteriana contra el *Enterococcus Faecalis*. De la Biospada 60, Hipoclorito de sodio al 5,25% y la combinación de Hipoclorito de sodio al 5,25% más la aplicación de biospada 60 como coadyuvante en el proceso de irrigación endodóntica, se realizó activación con equipo sónico por un minuto y comparándolo con el grupo control al cual no se le realizó protocolo de irrigación. Inicialmente, el protocolo planteado indicaba realizar la recolección de la muestra solo del Smear layer obtenido de la lima introducida previamente dentro del canal radicular para instrumentar el conducto girando de 3 a 4 veces en sentido de las manecillas del reloj después de cada irrigación, para ser cultivado en agar sangre durante 20 días, no obstante, al realizar la prueba piloto se *Enterococcus Faecalis*., por lo que basado en el estudio publicado por Guijarro en el 2017 (9), se decidió cambiar el protocolo de recolección de muestra.

Se tomó muestra de la lima y adicionalmente de los tubos de dentina teniendo la precaución de pipetear con solución salina dentro del conducto para obtener una mayor presencia de bacterias. Cada muestra se homogenizó por un minuto en vórtex, con la finalidad de desprender las bacterias que estuviesen adheridas a la superficie por medio del proceso de agitación mecánica (9), para finalmente tomar la muestra y depositarla en una placa de agar sangre, para su cultivo. Una vez

culminado el tiempo de incubación, las placas de agar se retiraron de la incubadora y se observó si hubo o no crecimiento microbiano mediante el método de recuento en placa; en caso de evidenciarse un crecimiento se realizó el recuento de UFC correspondiente. La utilización de la agitación mecánica por medio del vórtex (9), permitió obtener recuentos positivos de *Enterococcus Faecalis* posterior a la irrigación, en especial la de la muestra derivada de los tubos de dentina, intentando extraer la mayor cantidad posible de bacterias posicionadas dentro de los conductos laterales y accesorios con el propósito de determinar la efectividad antibacteriana de cada irrigantes.

Es necesario aclarar que, aunque la técnica de agitación permitió identificar UFC de *Enterococcus Faecalis* posterior a la irrigación, no es posible asegurar que esas cifras obedezcan a la totalidad de las bacterias alojadas en el conducto después de la desinfección química del mismo. La literatura ha informado que la técnica que permite establecer el recuento bacteriano en su totalidad se denomina pulverización y consiste en introducir el diente en nitrógeno líquido para proceder con su trituración hasta la obtención de un polvo fino, pero en el territorio nacional, dicha técnica no es utilizada lo que representa una evidente limitación para la investigación in vitro (10).

Por otro lado, con relación al recuento de bacterias, estudios han demostrado que el conteo realizado por microscopía electrónica de barrido (SEM) permite obtener un recuento preciso para verificar la presencia de bacterias en la dentina e incluso,

se menciona el uso de la microscopía de barrido láser focal (CLSM) y tinción de viabilidad que contribuye al análisis cuantitativo de bacterias muertas y vivas dentro de la dentina (11), lo cual se puede tener en cuenta para futuras investigaciones bajo esta misma línea de estudio.

El hipoclorito de sodio se ha usado como parte esencial del tratamiento de endodoncia desde los años 30, lo que ha hecho que sea considerado el irrigante de elección para la realización de los procedimientos de conducto debido a su eficacia antimicrobiana y excelente capacidad de disolver el tejido necrótico (12). Ahora bien, en el presente estudio in vitro, los hallazgos demostraron que el hipoclorito de sodio con una concentración del 5,25% logró eliminar la totalidad de microorganismos previamente incubados bajo condiciones óptimas cultivados en agar sangre durante 48 horas, por lo que se le puede atribuir una presunta efectividad del 100%, la cual se le atribuye a la concentración del irrigante no dissociada en solución de acuerdo al reporte dado por varias investigaciones (13)(14)(15)(16). No obstante, el sobrepaso a tejidos periapicales en altas concentraciones puede generar efectos no deseados durante el uso del irrigante, cuando se utiliza el hipoclorito de sodio a concentraciones de 5,25%, ocasionando hemolisis de los tejidos orgánicos debido a su pH entre 11 y 12,5 provocando oxidación a nivel de las proteínas, hidrolisis y un efecto osmóticamente activo. También aumenta la permeabilidad de los vasos sanguíneos por el daño en sus paredes generando edema y sangrado profuso a través del conducto radicular. Otras complicaciones reportadas son el daño al ligamento periodontal con soluciones a altas concentraciones (entre 3 y 5.25%) (7).

De acuerdo a lo anteriormente expuesto, es preciso mencionar que el hipoclorito de sodio sigue siendo el Gold estándar dentro del grupo de irrigantes endodónticos y que independientemente de la concentración que este maneje, la efectividad antibacteriana es similar e incluso alcanzan un porcentaje del 100%. Aunque en la actualidad, los bactericidas utilizados para irrigar los conductos radiculares tienen la posibilidad de erradicar al *Enterococcus Faecalis.*, con frecuencia se evidencian fallas en el tratamiento. Un ejemplo de esto es el estudio realizado por Kishen et al, que en el año 2008 lograron demostrar que las paredes del conducto radicular tratada con nanopartículas antimicrobianas minimizaron la adhesión del *Enterococcus Faecalis.* Al tejido dentinal, lo que lleva a concluir que, tratar la superficie radicular previene la recolonización bacteriana y la aparición del biófilm (17).

La acción de la BIOSPADA 60 evidenció una reducción en el recuento de UFC, lo que a su vez le aportó una efectividad antibacteriana contra la cepa del *Enterococcus Faecalis.* del 99,99%, gracias al mecanismo de acción de dicho componente que se caracteriza por la formación de estructuras en forma de espadas que ejercen presión sobre la membrana celular de las bacterias ocasionando la muerte de las mismas por medio de acción física. Sin embargo, este es un componente utilizado principalmente en los procesos de desinfección de instrumental o superficies, pero no como irrigante endodóntico y esto se debe a su citotoxicidad (18) (19).

Estudios realizados en modelo animal manifestaron la irritación dérmica severa en conejos y toxicidad a nivel ocular de ratas tras la administración de (trimethoxysilyl) propyl dimethyl octadecyl ammonium chloride 0.75% (19). Por otro lado, el mismo compuesto fue evaluado en un estudio humano in vivo con el fin de analizar la actividad antimicrobiana inhibiendo la formación de placa dental sin observar toxicidad significativa (20) gracias a la acción de la cadena de octadecilo que inhibía la adherencia inicial, y la sal de amonio que destruye las células adherentes iniciales y retrasa el crecimiento bacteriano. Aunque, en este estudio no se mencionó la concentración del compuesto (20).

Sin embargo, en el estudio de Bukiet et al, en el año 2012, se concluyó que la concentración micelar crítica de cloruro de benzalconio fue del 0,008%. A esta concentración, no tuvo ningún efecto sobre el contenido de cloro libre, la citotoxicidad o la eficacia antibacteriana de la mezcla. (21) Por lo tanto, en este estudio se utilizó la concentración sugerida. De acuerdo a lo descrito anteriormente, se decidió diluir la biospada que se utilizó como irrigante endodóntico en la presente investigación con el fin de minimizar la posibilidad de generar toxicidad y otros efectos como la de tejidos duros y de tejidos blandos, la pérdida de dientes y el daño a los nervios sensoriales (anestesia y parestesia) (22) y a su vez poder determinar la capacidad bactericida una vez diluida.

Finalmente, la presente investigación quiso analizar la efectividad bacteriana de la combinación de hipoclorito de sodio al 5,25% más el uso de Biospada 60 como

coadyuvante en el proceso de desinfección del conducto radicular con cepa de *Enterococcus Faecalis*. demostrando la capacidad bactericida en el 99,99%, superando la capacidad de la Biospada 60 como irrigante individual, pero sin alcanzar la eliminación total de las bacterias que logró el hipoclorito de sodio al 5,25%, dejando en evidencia que la biospada como complemento de la irrigación con hipoclorito disminuye la capacidad bactericida de este.

Jaramillo en el 2012 realizó un estudio en el cual investigó el uso del cloruro de benzalconio como bactericida encontrando resultados positivos que al ser comparados con la desinfección que aporta el Hipoclorito de sodio al 1%, obtuvo resultados similares

sin superar la acción bactericida del mismo (23). Estos resultados son comparables a lo estudiados en la presente investigación. Pues, aunque tanto el Hipoclorito de sodio como la biospada 60, demostraron efectividad antibacteriana contra el *Enterococcus Faecalis*. La acción del hipoclorito de sodio no fue superada por la de la Biospada.

Antes de finalizar, es importante consignar el análisis del comportamiento de la proliferación bacteriana de las 10 muestras pertenecientes al grupo control, mismo que no fue sometido a ningún agente irrigante. Sin embargo, no se puede omitir, que, aunque todas las muestras se cultivaron bajo un ambiente controlado y bajo las mismas condiciones, algunos cultivos arrojaron mayor recuento de UFC que

otros y esto se puede explicar debido a la morfología interna de los conductos radiculares, que, a pesar de ser del mismo tamaño, la cantidad, diámetro, forma y longitud de los conductos accesorios, laterales y ramificaciones permitió que en algunas muestras se presentara un mayor conteo de UFC (24).

Finalmente, dentro de las limitaciones de la presente investigación se destaca el tamaño de la muestra lo que no permitió arrojar resultados estadísticamente significativos. Por otro lado, el método utilizado para la obtención de la muestra se debió cambiar tras la realización de la prueba piloto por el de agitación mediante el vórtex, tanto en el tubo de dentina como muestra en lima, lo que arrojó resultados para el conteo de UFC. Pero no fue posible implementar el método de pulverización, ya que a nivel nacional no se maneja dicha técnica. La cual muestra reportes en la obtención de mayor cantidad de bacterias por no mencionar que la totalidad, que se encuentran alojadas dentro del sistema de conductos radiculares. Sin embargo, como fortaleza es posible mencionar que la presente investigación es el primer paso dado a nivel nacional para analizar, describir y verificar tanto el uso, como la efectividad antibacteriana de la Biospada 60 en el tratamiento de conductos radiculares

## Conclusiones

Los resultados demostraron que la Biospada 60 utilizada en el proceso de irrigación endodóntica presentó efectividad bactericida contra el *Enterococcus Faecalis*. No obstante, su acción bactericida no superó el uso del hipoclorito de sodio al 5,25%, que sigue siendo considerado el Gold estándar dada su capacidad bactericida y capacidad de remover tejido orgánico derivado de la instrumentación.

Puntualmente, el hipoclorito de sodio al 5,25% logró eliminar la totalidad de microorganismos incubados en los conductos radiculares, por lo que se le atribuye una efectividad antibacteriana del 100%. Por otro lado, aunque la combinación del Hipoclorito de sodio al 5,25% más la biospada 60 y la Biospada utilizada como irrigante individual arrojaron un porcentaje de efectividad antibacteriana del 99,99%, hubo menor número de Unidades formadoras de Colonia del *E. faecalis* en los conductos en los cuales se irrigó con la combinación de Hipoclorito de sodio + biospada 60. Sin embargo, estos resultados no arrojaron significancia estadística, siendo necesario la realización de estudios complementarios que refuercen los hallazgos presentados en este estudio in vitro.

También podemos concluir que mediante técnica de visualización SEM se observa caracterización morfológica bacteriana de *coccus*. Pero es necesario la confirmación de la cepa con PCR.

## Recomendaciones

Se recomienda dar continuidad a la línea de investigación con muestras más grandes que permitan realizar un análisis estadístico más precisos y sólidos.

También resulta interesante que para la recolección de la muestra de tejido inoculado se pueda recurrir a la técnica de pulverización por medio de nitrógeno líquido lo que a su vez permitirá corroborar su gran capacidad para recolectar la totalidad de microorganismos. Adicionalmente se sugiere implementar técnicas como el SEM para el recuento de UFC presentes en los tejidos radiculares posterior a la irrigación con los diferentes agentes. Así como implementación de pruebas PCR para confirmación de crecimiento específico en cajas petry de la bacteria *Enterococcus Faecalis*.

Finalmente se sugiere que, en futuras investigaciones, para determinar la efectividad antibacteriana, sea tomada la muestra de UFC en el mismo conducto antes y después de la instrumentación e irrigación para que los datos no se obtengan a partir de un grupo control sino del mismo diente tratado.

## Referencias bibliográficas

1. Silva EJNL, Prado MC, Soares DN, Hecksher F, Martins JNR, Fidalgo TKS. The effect of ozone therapy in root canal disinfection: a systematic review. *Int Endod J*. 2020;53(3):317–32.
2. Bhandi S, Mehta D, Mashyakh M, Chohan H, Testarelli L, Thomas J, et al. Antimicrobial Efficacy of Silver Nanoparticles as Root Canal Irrigant's: A Systematic Review. *J Clin Med*. 2021;10(6):1152.
3. Brook I. Microbiology and management of endodontic infections in children. *J Clin Pediatr Dent*. 2003;28(1):13–7.
4. Nagendrababu V, Meiyazhagan G, Beaula WS, Kalaiselvam R, Subramanian B, Chandrasekar A, et al. Comparison of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* biofilm - An in vitro study. *J Nanosci Nanotechnol*. 2017;17(7):4613–7.
5. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod*. 2006;32(2):93–8.
6. van der Sluis LWM, Vogels MPJM, Verhaagen B, Macedo R, Wesselink PR. Study on the Influence of Refreshment/Activation Cycles and Irrigants on Mechanical Cleaning Efficiency During Ultrasonic Activation of the Irrigant. *J Endod* [Internet]. 2010;36(4):737–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.12.004>
7. Marin Botero M, Gómez B, Cruz Lopez S. 0213-1285-Odonto-35-1-33. *Av en Odontoestomatol* . 2019;35(1):33–42.
8. Raura N, Garg A, Arora A, Roma M. Nanoparticle technology and its implications in endodontics: a review. *Biomater Res*. 2020;24(1):1–8.
9. Guijarro Góngora Shirley Yessenia. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR CARRERA DE ODONTOLOGÍA del hipoclorito de sodio a diferentes

temperaturas , sólo y combinado con agitación. Univ Cent Del Ecuador Carrera Odontol. 2017;28–78.

10. Baron A, Lindsey K, Sidow SJ, Dickinson D, Chuang A, McPherson JC. Effect of a Benzalkonium Chloride Surfactant-Sodium Hypochlorite Combination on Elimination of *Enterococcus faecalis*. J Endod [Internet]. 2016;42(1):145–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2015.08.035>

11. Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. J Endod [Internet]. 2011;37(10):1380–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.06.018>

12. Rico-Romano C, Zubizarreta-Macho Á, Baquero-Artigao MR, Mena-Álvarez J. An analysis in vivo of intracanal bacterial load before and after chemo-mechanical preparation: A comparative analysis of two irrigants and two activation techniques. J Clin Exp Dent. 2016;8(1):e9–13.

13. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative Evaluation of Endodontic Irrigants against *Enterococcus faecalis* Biofilms. J Endod. 2006;32(6):527–31.

14. Del Carpio-Perochena AE, Bramante CM, Duarte MAH, Cavenago BC, Villas-Boas MH, Graeff MS, et al. Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. J Endod [Internet]. 2011;37(8):1134–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.04.013>

15. Vianna ME, Gomes BPF, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, De Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;97(1):79–84.

16. Almeida J de, Santos G V, Orsi MT, Cechella BC, Bernardi A V, Felipe WT. Tratamento do biofilme intracanal de *Enterococcus faecalis* com suspensões de diferentes nanopartículas e irrigantes convencionais. Arq Cent Estud Curso Odontol Univ Fed Minas Gerais. 2015;51(1):32–8.

17. Sánchez-Sanhueza G, Fuentes-Rodríguez D, Bello-Toledo H. Copper Nanoparticles as Potential Antimicrobial Agent in Disinfecting Root Canals: A

Systematic Review. *Int J Odontostomatol*. 2016;10(3):547–54.

18. Świercz R, Hałatek T, Majcherek W, Grzelińska Z, Wąsowicz W. Toksyczne działanie chlorku benzalkoniowego na zwierzęta i ludzi. *Med Pr*. 2007;58(2):139–42.

19. Świercz R, Hałatek T, Wąsowicz W, Kur B, Grzelińska Z, Majcherek W. Pulmonary irritation after inhalation exposure to benzalkonium chloride in rats. *Int J Occup Med Environ Health*. 2008;21(2):157–63.

20. Nikawa H, Ishida K, Hamada T, Satoda T, Murayama T, Takemoto T, et al. Immobilization of octadecyl ammonium chloride on the surface of titanium and its effect on microbial colonization in vitro. *Dent Mater J*. 2005;24(4):570–82.

21. Bukiet F, Couderc G, Camps J, Tassery H, Cuisinier F, About I, et al. Wetting properties and critical micellar concentration of benzalkonium chloride mixed in sodium hypochlorite. *J Endod*. 2012;38(11):1525–9.

22. Verma P, Tordik P, Nosrat A. Hazards of Improper Dispensary: Literature Review and Report of an Accidental Chloroform Injection. *J Endod* [Internet]. 2018;44(6):1042–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.02.024>

23. Jaramillo DE, Arriola A, Safavi K, Chávez De Paz LE. Decreased bacterial adherence and biofilm growth on surfaces coated with a solution of benzalkonium chloride. *J Endod*. 2012;38(6):821–5.

24. Rosen E, Taschieri S, Del Fabbro M, Beitlitum I, Tsesis I, Matherne RP, et al. Conductos laterales y accesorios. Una realidad en la cavidad endodóntica. *J Endod* [Internet]. 2000;VOL II(4):127–34. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239908011655>  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009923990700564X>  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239911014683>  
<http://www.fodonto.ncu.edu.ar/upload/articulo-8.pdf>

