

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA EFICACIA ANTIFÚNGICA DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN AGUA DESTILADA Y DEL GEL DE DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.2% COMO MEDICACIÓN INTRA CONDUCTO FRENTE A *CANDIDA ALBICANS*

¹ Luis Fernando Bedoya R., ¹ Martha Patricia Niño C., ¹ Carolina M. Peña M., ¹ Emelina Toloza R.
¹ Estudiante de II año Especialización en Endodoncia U. Santo Tomás.

Autor responsable de correspondencia: Luis Fernando Bedoya Rodríguez
Correo electrónico: lufeber26@gmail.com

Segundo Puesto en el concurso "RAFAEL TORRES PINZÓN" entregado en el marco del XXV Congreso de la Federación Odontológica Colombiana FOC "Jaime Trillos Novoa", Bucaramanga, 14 y 15 de agosto de 2008.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la eficacia *in vitro* de la pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada y gel de digluconato de clorhexidina (CHX) al 0.2%, separadamente, como medicaciones intraconducto frente a *Candida albicans* en raíces de dientes humanos extraídos.

Materiales y métodos: Mediante un estudio experimental *in vitro*, en el que se utilizaron 45 raíces uniradiculares, previamente inoculadas con *Candida albicans*, ATCC6455017 durante 72 horas y que luego fueron medicadas intraconducto con pasta de Ca(OH)₂ (Eufar®) en agua destilada p/v 50% y con gel de digluconato de clorhexidina al 0.2% (Perioxidin®), durante 7 días; en el siguiente paso, cada espécimen radicular fue instrumentado con limas Hedstrom de la segunda serie para obtener barrillo dentinario del sistema de canales radiculares, el cual se diluye en 5 ml de tripticasa soya que se siembra en agar saboraud al 2%, durante 72 horas a 37°C, para determinar (UFC/ml) de esta levadura.

Resultado: La eficacia de la pasta de Ca(OH)₂ fue del 62.5% y la del gel de CHX al 0.2% fue de 6.25%. El ANOVA reveló diferencias estadísticamente significativas (p=0.0013) entre los promedios de UFC/ml de *Candida albicans*, entre las medicaciones. También, el test de Bonferroni estableció diferencias significativas entre los promedios de UFC/ml de *Candida albicans* después de medicar con pasta de Ca(OH)₂ comparado con gel de CHX al 0.2% (p=0.002) y el grupo control (p=0.010). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento con gel de CHX al 0.2% y el grupo control.

Conclusiones: Se demostró, *in vitro*, que *Candida albicans* es capaz de establecerse al interior del sistema del canal radicular e interactuar con la dentina. [Bedoya LF, Niño MP, Peña CM, Toloza E. Evaluación *in vitro* de la eficacia antifúngica del hidróxido de calcio en agua destilada y del gel de digluconato de clorhexidina al 0.2% como medicación intraconducto frente a *Candida albicans*. Ustasalud 2008; 7: 77 - 86]

Palabras clave: Medicación intraconducto, *Candida albicans*, Hidróxido de calcio, Clorhexidina.

EVALUATION OF THE ANTI-FUNGAL EFFECTIVENESS OF DISTILLED WATER CALCIUM HYDROXIDE AND CHLORHEXIDINE DIGLUCONATE GEL UP TO 0.2% AS INTRACANAL MEDICATION AGAINST *CANDIDA ALBICANS*

ABSTRACT

Purpose: To evaluate the effectiveness *in vitro* of Ca(OH)₂ paste in distilled water and chlorhexidine digluconate gel (CHX) up to 0.2% separately as induct medications forehead *Candida albicans* roots of extracted human teeth.

Materials and methods: By means of an experimental study *in vitro* in which 45 dental roots were used, previously inoculated with *Candida albicans* ATCC6455017 during 72 hours and that later were medicated intracanal with Ca(OH)₂ paste (Eufar®) in distilled water p/v 50% and CHX digluconate gel up to 0.2%. (Perioxidin®), during seven days. In the next step each radicular specimen was instrumented with Hedstrom files of the second series in order to obtain dentine mud of the radicular channel system, which is diluted in 5 ml of soy tripticasa spreaded on agar saboraud up to 2% during 72 hours to 37°C to determine (UFC/mL) of this yeast.

Results: The study showed that the effectiveness of the Ca(OH)₂ paste is 62.5% and the one of the CHX digluconate gel was 6.25%. Besides that the ANOVA revealed differences statistically significant (p=0.0013) between the averages of UFC/ml of *Candida albicans* among that medications. Also, the Bonferroni test established significant differences among the UFC/mL averages of *Candida albicans* after medicated with Ca(OH)₂ compared with CHX gel up to 2%. (p=0.002) and the control group (p=0.010). However, there were not found significant differences in the treatment with CHX gel and the control group.

Conclusions: *Candida albicans* is able to settle down in the interior of the canal's system and interacts with dentine.

Key words: Induct medication, *Candida albicans*, Calcium hydroxide, Chlorhexidine.

INTRODUCCIÓN

Frente a las infecciones endodónticas persistentes producto de la microbiota resistente, el endodoncista ve la necesidad de utilizar las estrategias de medicación intraconducto que controlen el crecimiento de microorganismos, a fin de recuperar y mantener sano el tejido periapical. Para lo cual, se evalúa la eficacia de la medicación intraconducto, como control de la reinfección del sistema del canal radicular y de lesiones perirradiculares persistentes para evitar la citotoxicidad, la resistencia microbiana y la sensibilización del huésped a la medicación.¹⁻³

Para Siqueira y Sen (2004), *Candida albicans* es la especie de levadura más comúnmente detectada en la cavidad oral de individuos sanos e inmunosuprimidos.¹⁻³ En la práctica endodóntica está asociada a infecciones secundarias como tratamientos de conductos fallidos, lesiones perirradiculares refractarias o persistentes. Pues se aísla con frecuencia en los túbulos dentinales dada su adaptabilidad y capacidad dentinofílica, mecanismos de patogenicidad que la hacen resistente a la preparación químico-mecánica de la terapia endodóntica.¹⁻⁵

En cuanto a la medicación intraconducto con pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en agua destilada, utilizada con regularidad en nuestro medio por su acción antimicrobiana, capacidad restaurativa, accesibilidad económica y fácil manejo;^{1,3,6,7} recientes estudios *in vitro* controvierten su eficacia frente a *Candida albicans* por razones como la alta resistencia a una amplia gama de pH, porque los iones Ca^{++} estimulan el crecimiento y morfogénesis de la levadura.^{1,8-10} Además, porque el efecto amortiguador de la dentina impide la eliminación efectiva de *Candida albicans* razones por las cuales algunos consideran que esta medicación intraconducto es ineficaz en infecciones del canal radicular y la curación de lesiones periapicales.^{1,3,6,11-13}

Sin embargo, para Estrela y colaboradores, (2001), *Candida albicans* es sensible a la pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ disuelta en agua destilada a las 48 horas de contacto directo y ejerce una acción antimicrobiana después de 72 horas que se prolonga hasta los siete días, tiempo en el cual amerita el recambio.^{7,8,12,14} Adicionalmente a esta controversia, se suman las diferencias en los resultados de los estudios que dependen de metodologías que no asumen las diferencias entre las medicaciones. Por lo tanto, es recomendable evaluar su eficacia.^{1,3,6,13}

Así mismo, se recomienda evaluar la eficacia del Digluconato de Chlorhexidina (CHX) como medicación intraconducto, según la concentración, tiempo de exposición y el tipo de presentación disponible en el mercado, pues es controvertida su acción frente

a una microbiota resistente, como *Candida albicans*. Sin embargo, en la práctica clínica endodóntica de nuestro medio, el CHX es utilizado sólo dentro de protocolos de irrigación, aunque se le propone como alternativa de medicación intraconducto por su rápido y amplio espectro antimicrobiano, sustentividad y baja toxicidad.^{1,8,15,16}

Al evaluar la eficacia del CHX al 0.12%, Siqueira y colaboradores, encontraron que fue eficaz contra un amplio rango de microorganismos resistentes, como *Candida albicans*.^{17,18} Barbosa y colaboradores, en 1997, realizaron un estudio comparativo de la acción antimicrobiana de medicaciones intraconducto, entre ellas la CHX al 0.12% y 0.2%, demostró después de siete días, cultivos negativos en el 77.3% de los casos clínicos tratados.¹⁹ En estudios de laboratorio se ha demostrado que ambas concentraciones inhiben todos los microorganismos probados.¹⁹

Por otra parte, Sen y colaboradores recomendaron su uso en la terapia endodóntica de pacientes con candidiasis oral.²⁰ También, se ha obtenido una eficacia del 61% al 66% frente a *Enterococcus faecalis* según Lynne y colaboradores.²¹ Paquette y colaboradores, en 2007, en un estudio *in vivo* afirmó que la CHX al 2% utilizada como medicación intraconducto en el lapso de 7 a 15 días no demuestra las propiedades de control antimicrobiano que se le adjudican, pues tan sólo disminuye la microbiota endodóntica en 65.5% y 45% respectivamente, que indica la persistencia de microorganismos.²²

En otros estudios, se constata que la sustentividad antimicrobiana del digluconato de CHX al 2% no se alcanza si no hay una interacción prolongada entre el medicamento y la dentina para que ocurra la absorción del digluconato de CHX, y el efecto antimicrobiano prolongado.²²⁻²⁵

Ante esta situación, el endodoncista se encuentra con el desafío de reconocer los mecanismos de patogenicidad de esta levadura y las alternativas de medicación intraconducto entre citas que garanticen la eliminación de *Candida albicans*. El uso rutinario de medicamentos intraconducto como la pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en agua destilada y nuevas opciones como el gel de digluconato de CHX al 0.2% (Perioxidin[®]), requieren ser evaluados en su eficacia.^{1,3,6,15}

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio experimental *in vitro* contó con una muestra de 45 dientes humanos unirradiculares, se excluyeron los que presentaron: caries radicular, dilaceraciones, fractura radicular, reabsorción radicular, calcificación radicular, tratamiento endodóntico previo y conductos sinuosos. Los dientes se limpiaron con papel absorbente, se sometieron a

enjuague durante 24 horas en agua estéril y se introdujeron en formalina al 10%, para preservarlos de la deshidratación y contaminación externa.^{11,26,27}

A continuación, se estandarizó la longitud radicular a partir del ápice a la corona aproximadamente 16 mm, se retiró la corona con un disco de carborundo ultra delgado para metal (equipo de motor de banco demco).^{19,27-29} Además, se refrigeraron en agua fría para evitar lesionar la estructura dentaria generada por el calor excesivo.

Se mejoró el acceso a los conductos mediante la preparación del tercio cervical de las raíces con fresas Gates-Glidden No. 2 y 3.^{11,30} La preparación químico-mecánica de los conductos se realizó con la técnica convencional, se inició con limas pre serie No. 10, un milímetro antes del ápice del conducto, se continuó con limas Hedstrom de la primera serie hasta la No. 40 (Maillefer®).²⁹⁻³¹ Adicionalmente durante la instrumentación, se irrigó con 2 ml de solución salina entre lima y lima; para finalizar esta preparación se irrigó, también, con 5 ml de ácido cítrico al 10% por 30 segundos; y se retiró con 5 ml de solución salina con el fin de remover los residuos de barrillo dentinario.^{21,26,29,32,33}

Los conductos se secaron con puntas de papel estéril de la primera serie; las raíces se pincelaron externamente con resina epóxica (esmalte mundo color), para recubrir el tercio medio y apical de la raíz hasta 2mm antes del extremo cervical y, posteriormente, se secaron a 120°C durante 30 minutos.^{11,28} Luego los especímenes radiculares se esterilizaron dentro de tubos de ensayo que contenían 10 ml de caldo tripticasa soya y, se llevaron al autoclave dos veces cada 30 minutos a 121°C. Se comprobó su esterilización mediante la incubación durante 24 horas a 37°C según su turbidez.^{9,17,28,29}

El inóculo de *Candida albicans* (ATCC6455017) se cultivó por 48 horas a 37°C en Agar Sabouraud-Dextrosa 2% (Merck®), y a partir de éste se preparó una suspensión celular en caldo tripticasa soya (Merck®) que se ajustó a escala McFarland No. 0.5, con 10⁸ unidades formadoras de colonias (CFU/ml) para garantizar su inoculación.^{5,28,34,35} Luego, *Candida albicans* se sembró al interior de los conductos radiculares con micropipeta automática, en un volumen de 0.01 ml equivalentes a 10 µl.^{28,29} El acceso a los conductos se selló con motas de algodón estéril y cemento Coltosol F (Coltene®).^{30,36} La incubación se hizo durante 72 horas a 37°C en viales estériles con 1 ml de agua destilada, para evitar su deshidratación.^{2,18,28,29,37.}

Para verificar la contaminación de los conductos por *Candida albicans*, se removió el cemento de Coltosol y se cultivaron muestras del interior de los conductos en Agar Sabouraud-Dextrosa al 2% (Merck®) durante 48 horas a 37°C.^{9,29} Antes de la medicación intracon-

ducto los especímenes radiculares se lavaron con 5 ml de solución salina estéril.

La medicación intraconducto se realizó por un procedimiento aleatorio, de la siguiente manera:

Tratamiento 1: con pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada al 50%, se aplicó a 16 conductos radiculares y se utilizaron léntulos No. 40 (Dentsplay-Maillefer®) accionados por micromotor.^{9,19,26}

Tratamiento 2: con el gel de digluconato de CHX al 0.2%, se aplicó a otros 16 conductos radiculares y se usó una jeringa estéril con aguja calibre 27 (Endo-eze, Ultradent®) para medicación intraconducto.^{16,19,24,38,39}

Grupo control: agua destilada para 13 conductos radiculares como grupo control mediante el uso de una jeringa estéril y de una aguja calibre 27 (Endo-eze, Ultradent®).^{9,4,16,29,39,40}

Una vez realizada la medicación intraconducto, se sellaron las raíces en el tercio cervical con cemento Coltosol y se incubaron durante siete días a 37°C en viales estériles con 1 ml de agua estéril.^{1,3,9,15,19,28,34,41}

Posteriormente, se efectuó la recolección de la muestra de dentina radicular así: remoción del cemento Coltosol en el tercio cervical de la raíz e irrigación intraconducto con 5 ml de solución salina estéril para remover el medicamento.²⁹ Luego se obtuvo el barrillo dentinal por medio del limado consecutivo de las paredes del conducto con limas Hedstrom de la segunda serie N° 45, 50, 55 y 60 (Maillefer®) (Figura 1). Entre lima y lima se irrigaron los conductos con 3 ml de solución salina y se secaron con puntas de papel estéril.^{9,11,17,20,25,28,29}

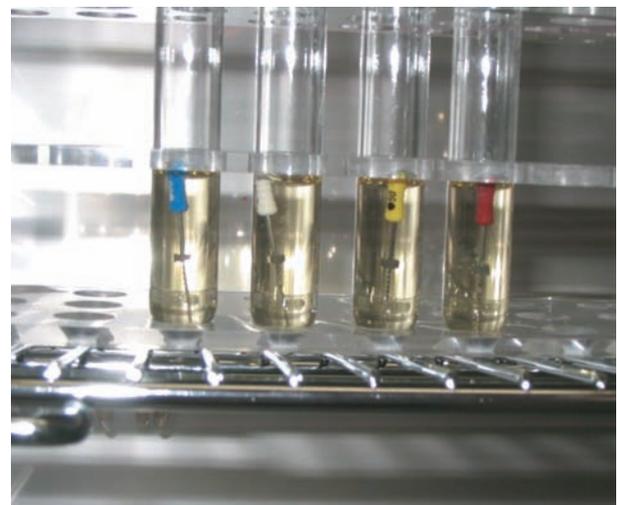


Figura 1. Limas con el barrido dentinal.

Para el análisis microbiológico, la lima con barrillo dentinario se transfirió a un tubo de ensayo con 5 ml

de caldo tripticasa soya (Merck®), se centrifugó en vórtex por 10 segundos, a fin de diluir el barrillo dentinal;²⁹ posteriormente, se sembró en placas de agar Sabouraud-Dextrosa al 2%, y se incubó durante 72 horas a 37°C. A continuación, se contaron las colonias de *Candida albicans* y se determinó su número, según el método estándar de laboratorio de recuento en placa (Figura 2).^{29,42}

Se realizó un análisis univariado para describir las variables según las medidas de promedios y desviación estándar para la variable continua (variable dependiente UFC/ml de *Candida albicans*) y, proporciones para las nominales y categóricas (variables independientes)

Variable dependiente o de salida:

Recuento (UFC/ml) de *Cándida albicans* por ml de solución de barrillo dentinario.

Variables independientes:

Tipo de Medicación:

Tratamiento 1: pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada.

Tratamiento 2: gel de CHX al 0.2%.

Tratamiento 3: grupo control, agua destilada

Tipo de limas: limas Hedstrom ^{45, 50, 55 y 60}

Para observar la variación de la eficacia de cada uno de los tratamientos se realizó un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA). Para establecer comparaciones múltiples entre tratamientos se realizaron las pruebas de Bonferroni, Scheffe y Sidak, y así se determinó la existencia de diferencias entre las medicaciones.⁴³

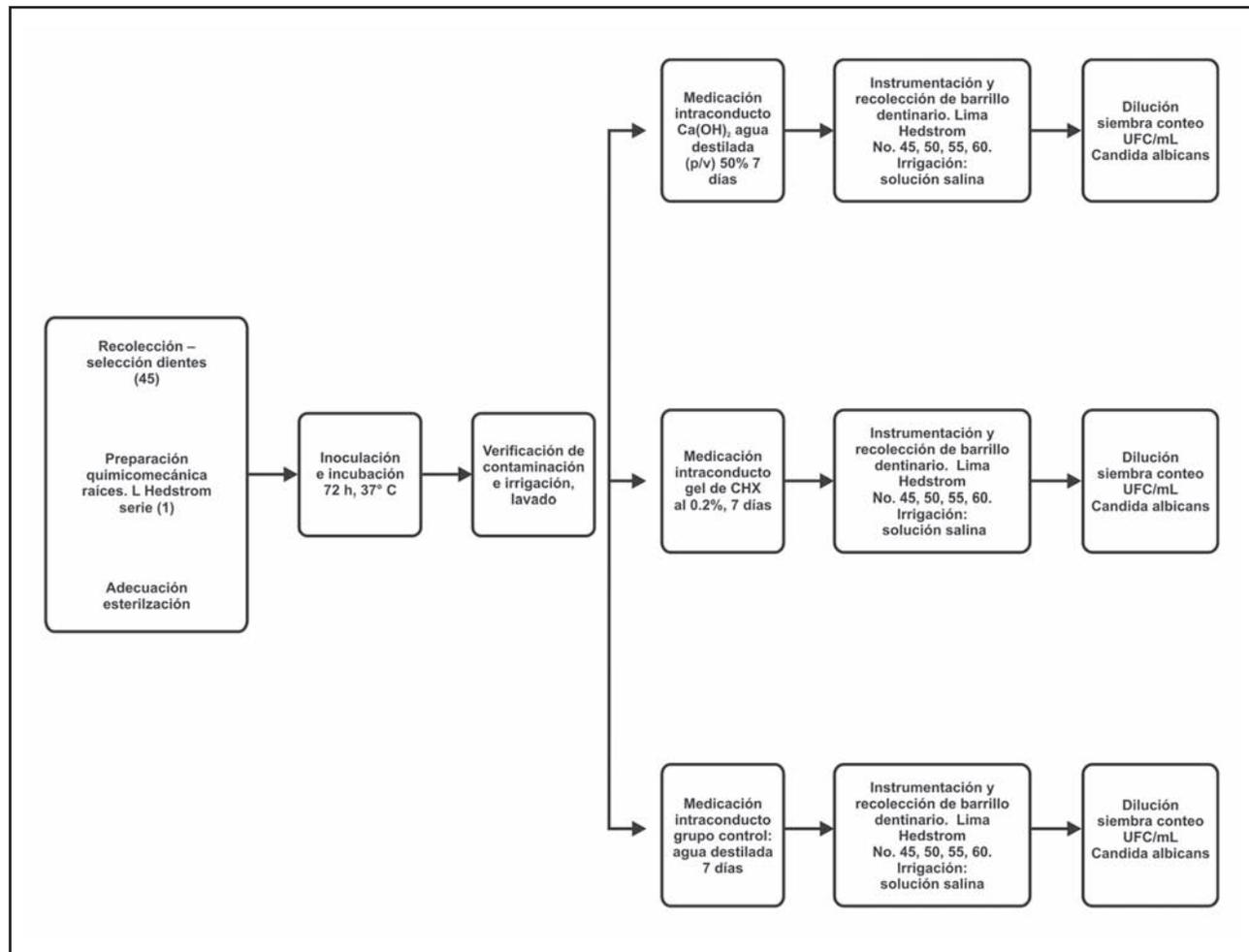


Figura 2. Flujoograma del procedimiento.

RESULTADOS

Las UFC/ml de *Candida albicans*, después de las medicaciones intraconducto mostraron un valor de cero (0) para el 28.3% de los dientes analizados con la lima No. 45; el 34.8% de los dientes analizados con lima No. 50; el 47.8% de los dientes analizados con lima No. 55; y del 50% para el total de los dientes analizados con la lima No. 60.

Los datos contenidos en la Tabla 1 muestran como los promedios de UFC/ml de *Candida albi-*

cans disminuyen desde la pared más externa del canal radicular hacia la profundidad de la dentina; según el promedio, la desviación estándar (DE) y el rango de UFC/ml para cada tipo de lima utilizada.

Después de utilizar los diferentes medicamentos establecidos, se determinó el porcentaje de conductos que continuaron infectados con *Candida albicans* (UFC/ml mayor o igual a 1) (Tabla 2).

Tabla 1. Promedio de UFC/ml de solución dental de *Candida albicans* según el tipo de lima.

Lima	Promedio	Desviación Estándar	Rango
Lima 45	27.3	41.5	0 - 170
Lima 50	10.6	19.2	0 - 99
Lima 55	11.8	28.5	0 - 176
Lima 60	5.2	9.6	0 - 33

Tabla 2. Porcentaje de conductos radiculares infectados con *Candida albicans* después de usar las diferentes medicaciones.

Medicamento	Lima 45	Lima 50	Lima 55	Lima 60
Ca(OH) ₂	25%	18.75%	12.5%	12.5%
CHX 0.2%	93.75%	81.25%	56.25%	56.25%
Control	100%	100%	81.25%	68.75%

Con respecto al porcentaje de conductos no infectados, es decir, cero UFC/ml en todas las limas, después de las diferentes medicaciones intraconducto se encontró que la pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada, fue efectiva en el 62.5% de las raíces medicadas, mientras que el gel de digluconato de CHX al 0.2% fue efectivo en el 6.25% y, el grupo control presentó *Candida albicans* en todas las muestras (Figura 3).



Figura 3. Apariencia de *Candida albicans*.

Se hallaron UFC/ml de *Candida albicans* en toda la secuencia del limado de las paredes dentinales hasta una profundidad de 200 μ m para todos los grupos de medicación intraconducto utilizados en el estudio.

La medicación intraconducto con pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada mostró los menores promedios de UFC/mL de *Candida albicans* durante la secuencia de limado, al compararlos con los resultados de la aplicación del gel de CHX al 0.2% y con el grupo control. El promedio de UFC/mL de *Candida albicans*, después de aplicar el gel de CHX al 0.2% fue mayor que el promedio de UFC/mL en el grupo control para las limas Hedstrom No. 45 y 55.

Los datos obtenidos muestran una tendencia a disminuir en los promedios de UFC/ml en los dos grupos medicados a medida que aumenta el diámetro de la lima y se profundiza en la pared dental (Tabla 3).

Para determinar la eficacia antimicrobiana de los tres tipos de medicación utilizados en este estudio, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) (Tabla 4).

Tabla 3. Promedio de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) de *Candida albicans*, por mililitro, según los medicamentos aplicados y el tipo de lima utilizada.

Medicación	Lima 45 50 μm			Lima 50 100 μm			Lima 55 150 μm			Lima 60 200 μm		
	\bar{X}	DE	RANG	\bar{X}	DE	RANG	\bar{X}	DE	RANG	\bar{X}	DE	RANG
Ca(OH) ₂	2.18	5.40	0-19	0.75	2.26	0-9	0.31	1.01	0-4	0.25	0.57	0-2
CHX 0.2%	49.08	59.44	0-170	14.43	25.33	0-99	19.31	45.10	0-176	3.75	7.45	0-28.5
Control	31.28	22.31	2-68	17.5	18.64	1-73	16.42	15.05	0-45.5	12.53	13.00	0-33

\bar{X} : Promedio, DE: Desviación estándar.

Tabla 4. Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar la eficacia de la medicación intraconducto con dos tipos de tratamiento frente a *Candida albicans*.

Fuente de variación	SC	GL	CM	F	P
Entre grupos	4102.49244	2	2051.24622	7.75	0.0013
Dentro de los grupos	11376.5534	43	264.57101		
Total	15479.0458	45	343.978797		

SC: suma de cuadrados, GL: grados de libertad, CM: cuadrado de las medias, F: Prueba F, P: valor de p.

Después de realizar el ANOVA se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.0013$) entre los promedios de UFC/ml de *Candida albicans*, según las medicaciones empleados, lo que indica que se acepta la hipótesis alterna que planteó estas diferencias y se rechaza la hipótesis nula de igualdad en estos promedios.

Para realizar comparaciones múltiples se utilizó la prueba de Bonferroni con el fin de establecer las posibles diferencias entre cada una de las medicaciones intraconducto aplicadas comparadas con las otras dos medicaciones (Tabla 5).

Tabla 5. Comparación de diferencias entre las medicaciones intraconducto utilizadas, a través de la prueba de Bonferroni.

Medicaciones comparadas	p
Ca(OH) ₂ - CHX 0.2%	0.002*
Ca (OH) ₂ - G. control	0.010*
CHX 0.2% - G. control	1.000

$p < 0.05$

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de UFC/ml de *Candida albicans*, después de aplicar pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada, comparado con el tratamiento con el gel de CHX al 0.2% ($p=0.002$); de la misma manera se hallaron diferencias al comparar el tratamiento con pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada y el grupo control ($p=0.010$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento con gel de CHX al 0.2% y el grupo control.

DISCUSIÓN

Aunque, las investigaciones recientes sobre la presencia y crecimiento de hongos en el sistema del canal radicular sean abundantes, hacen falta estudios que se ocupen de la acción antifúngica de la medicación entre citas utilizadas en infecciones endodónticas persistentes, sobre todo aquellas relacionadas con la presencia de *Candida albicans* pues, aunque haga parte de la microbiota del canal radicular en menos de un 1%, los mecanismos de patogenidad de esta levadura hacen que se detecte en tratamientos de conductos fallidos entre el 7% a 18%, lo que confirmaría que su persistencia es la que ocasiona el mayor impacto negativo sobre los dientes tratados endodónticamente.^{1-3,22,40}

Se constató, mediante el limado de la pared dentinal con limas Hedstrom, (45-60), que *Candida albicans* alcanza una profundidad en la dentina de hasta 200 μ m después de 72 horas y, persiste después de 7 días de medicación intraconducto; hallazgos que guardan relación con los estudios de Waltimo y colaboradores, en 2004, quienes reportan una profundidad de penetración *in vitro* de esta levadura hasta de 60 μ m.^{1,3} Sin embargo, para Sen y colaboradores el nivel de penetración de *Cándida albicans* es vigoroso *in vivo* y aún puede alcanzar mas allá de los 150 μ m.^{4,44}

Aún más, se requiere del muestreo microbiológico a través de la dentina del sistema del canal radicular para confirmar tales resultados, puesto que algunas evidencias investigativas omiten la presencia de *Candida albicans* cuando el muestreo es sólo desde el canal radicular principal.^{4,5,11,24,29,35}

En el presente estudio, al evaluarse la eficacia de las medicaciones intraconducto frente a *Candida albicans*, con el uso de pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada, en una concentración p/v del 50%, durante 7 días, se constató por el análisis del barrillo dentinario, que hay disminución en el número de UFC/ml de esta levadura al compararlas con el conteo de UFC/ml del grupo control y que la pasta se muestra efectiva hasta un 62.5% de los conductos radiculares tratados con ella. Sin embargo, el 27.5% de las raíces tratadas con pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada, permanecieron infectadas.

Resultados que coinciden con Siqueira y colaboradores, en 2003,¹⁷ quienes al evaluar el uso de la pasta de Ca(OH)₂, demostraron que la medicación logró desinfectar la dentina de *Candida albicans* en el 100% de los especímenes, luego de una semana de medicación,¹⁶ y también, con Estrela y colaboradores que demostraron que la *Candida albicans* es sensible a la pasta de Ca(OH)₂ disuelta en agua destilada a las 48 horas de contacto directo y, que logra una acción antimicrobiana irreversible después de 72 horas;⁷ acción que se prolonga hasta por 7 días, momento en el cual es indispensable su recambio.^{8,12,14} Sin embargo, para Menezes y colaboradores, en 2004,³⁵ aunque la medicación intraconducto con pasta de Ca(OH)₂ durante quince días arrojó un recuento de 0.0 UFC/ml, posteriormente en un segundo recuento luego de 22 días se constató el resurgimiento de la levadura en 5.8 UFC/ml.¹ El análisis de la literatura científica sobre la medicación intraconducto permitió a Law y colaboradores afirmar que la pasta de Ca(OH)₂ es el mejor medicamento intracanal para la reducción de la flora microbiana pero aclaró que su eficacia es relativa pues depende de múltiples factores.⁴⁵

Por otra parte, la evaluación de la eficacia de la medicación intraconducto con pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada frente a *Candida albicans* es aún controvertida, puesto que también depende del método de estudio *in vitro* utilizado para evaluar su actividad antifúngica. Razón por la cual Estrela y colaboradores sugieren revisar los métodos experimentales y las condiciones para comparar las sustancias utilizadas como medicación intraconducto dada la diferente solubilidad, difusión y tiempo de acción antimicrobiana de éstas.⁷ En el caso de la utilización del método *in vitro* de difusión en agar, Barbosa y colaboradores, en 1997,¹⁹ atribuyen la baja eficacia antimicrobiana de la pasta de Ca(OH)₂ a la capacidad buffer del agar para disminuir la difusión del Ca(OH)₂, que en consecuencia reduce el efecto de su pH elevado.

Precisamente, bajo el método experimental *in vitro* de contacto directo, se pudo observar el efecto a distancia de la pasta de Ca(OH)₂ frente a *Candida albicans*, durante 7 días, en contraste con las UFC/ml del grupo control; lo que probablemente se debía al sostenimiento de los niveles altos de pH durante el periodo de medicación con la consecuente disminución de UFC/ml de *Candida albicans*. Aunque, su persistencia a través de la dentina, confirmó la relación de ésta con las infecciones endodónticas persistentes,^{1,2,9,19} es posible que al renovar y prolongar el tiempo de la medicación intraconducto con pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada hasta 14 y 21 días se logre mantener el pH y se mejore la eficacia de esta medicación contra *Candida albicans*, como lo reportan algunos estudios.^{12,14,17,28,44,46-48}

También, la CHX se utiliza como irrigante y medicación intraconducto en concentraciones del 0.12% a 2%, por su amplio espectro antimicrobiano y el efecto a largo plazo: sustantividad. En nuestro medio, es frecuentemente utilizada como irrigante, aún en gel de digluconato de CHX al 0.2% (Perioxidin®); como alternativa de medicación intraconducto, a fin de alcanzar un mayor tiempo de contacto con la microbiota endodóntica y la dentina, que asegure la eficacia de la medicación. Además, esta presentación en gel es accesible en el mercado farmacéutico.^{8,15,16,24,35,49,50}

Con respecto a la evaluación de la eficacia del gel de CHX al 0.2%, usado como medicación intraconducto durante 7 días, el presente estudio comprueba su baja eficacia frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC6455017, pues se muestra efectivo tan sólo en un 6,25% de los especímenes radiculares tratados con este medicamento, sin que se constata una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) en relación con el grupo control. Aunque, los resul-

tados de estudios previos reportan que la (CHX) es eficaz aún en concentraciones más bajas.

Con respecto a la concentración de la CHX, Waltimo y colaboradores, en 2004,³ sugiere que tiene un amplio espectro antimicrobiano, también en bajas concentraciones.^{8,16,25,50,51} Sin embargo, al parecer, la exposición mínima y la baja concentración pueden no ser tan efectivas y su actividad antifúngica ser inhibida por el sistema buffer de la dentina.^{39,51} Al respecto, para Estrela y Holland la concentración inhibitoria mínima (MIC) de la CHX es del 0.02% frente a *Candida albicans*;¹² mientras que para Ferguson y colaboradores, el digluconato de CHX es un efectivo agente anticandidial en una MIC < 0.63 µg/ml.⁴⁰

Al evaluar la eficacia del gel de digluconato de CHX al 0.2%, (Perioxidin®) no encontró actividad antifúngica frente a *Candida albicans*, en este estudio; a pesar de que algunos autores afirmaran que la concentración al 0.2% de digluconato de CHX era efectivo como medicación entre citas y, que para asegurar su liberación lenta, en el caso presente, se haya utilizado en gel.^{15-17,51,53} Sin embargo, en esta investigación, la medicación intraconducto durante 7 días con el gel de CHX al 0.2%, no logró el efecto antifúngico esperado.

De aquí que se infiera que el gel de CHX al 0.2% utilizado en esta investigación como medicación intraconducto, ni tiene un efecto a distancia ni un efecto a largo plazo, tal como se desearía^{23,24,49} puesto que al recontar las UFC/ml de *Candida albicans* se constató que penetraban hasta una profundidad de 200 µm. Además de la concentración de la CHX empleada, es probable que otros factores hayan condicionado la baja capacidad antifúngica como: la alta viscosidad del gel que aumenta la tensión superficial e impide la penetración a través de los túbulos dentinales, la disminución rápida del pH de la medicación, la alteración de la composición del gel bioadhesivo y la posible resistencia intrínseca de la cepa de *Cándida albicans* utilizada en el estudio.^{16,38,41}

En el caso de este estudio experimental *in vitro*, los resultados confirmaron que la *Candida albicans* invade y se profundiza en el sistema del canal radicular y la dentina aunque, para algunos autores el tiempo de infección de los conductos transcurrido no sea compatible con la realidad clínica.¹⁸

Ahora, se hace oportuno puntualizar que, todo estudio experimental *in vitro*, como el aquí desarrollado, es limitado en cuanto que no se logran reproducir los factores que *in vivo* determinan la eficacia de la medicación, entre ellos: el efecto buffer de la dentina, la naturaleza poli microbiana de las infecciones, la presencia de biofilms que, podría requerir mayor

volumen y tiempo de medicación para ejercer su actividad antifúngica.^{1,3,4,7,34,41}

CONCLUSIONES

Se demostró que *Candida albicans* es capaz de establecerse al interior del sistema del canal radicular e interactuar con la dentina, alcanza a penetrarla hasta una profundidad de 200 µm, que confirma su persistencia y patogenicidad.

También se comprobó que *Candida albicans* ATCC6455017, se establece en el canal radicular después de un periodo de incubación de 72 horas a 37°C y demostró que resiste a la medicación intraconducto aún después de siete días.

En el presente estudio, la medicación intraconducto con pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada, fue más eficaz que el gel de CHX al 0.2% (Perioxidin®), con una diferencia estadísticamente significativa ANOVA (p=0.0013) entre los promedios de UFC/ml de *Candida albicans*. Estos resultados se confirmaron por la prueba de Bonferroni.

Al establecerse el porcentaje de especímenes radiculares totalmente desinfectados (cero (0) UFC/ml), se constató que la pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada sólo es eficaz en un 62.5% de los conductos medicados con ésta y, que el gel de digluconato de CHX al 0.2% es eficaz sólo en el 6.25% de los especímenes.

La medicación intraconducto con pasta de Ca(OH)₂ en agua destilada (50% p/v), demostró cierta eficacia frente a *Candida albicans* (ATCC6455017), a pesar de la persistencia de la levadura a través de la dentina, resultado que probablemente dependa de la concentración que garantiza un pH alto, de la difusión a través de la pared dentinal, del tiempo de medicación y de la susceptibilidad de la cepa utilizada.

En contraste, la medicación intraconducto con el gel de digluconato de CHX al 0.2% (Perioxidin®), única presentación en gel comercialmente disponible en nuestro medio, demostró una baja eficacia frente a *Candida albicans* (ATCC6455017), además no hubo diferencias significativas al compararlo con el grupo control, probablemente por la baja concentración del principio activo, su alta tensión superficial, la composición del bioadhesivo y la susceptibilidad de la cepa utilizada.

El método *in vitro* de contacto directo aplicado en especímenes radiculares de dientes humanos, permite establecer una relación entre la levadura, la dentina y el medicamento y simula, parcialmente, los componentes clínicos y el manejo de las infecciones endodónticas persistentes; el muestreo mi-

crobiológico a partir del limado de la pared dentinal y la obtención del barrillo dentinario, reflejaron la penetrabilidad de *Candida albicans* y el efecto a distancia de la medicación intraconducto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Siqueira J, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endodon* 2004; 97: 632 - 641.
2. Waltimo TM, Orstavik D, Sirén EK, Haapasalo MP. *In vitro* yeast infection of human dentin. *J Endod* 2000; 26: 207 - 209.
3. Waltimo TM, Haapasalo M, Zehnder M, Meyer J. Clinical aspects related to endodontic yeast infections. *Endodontic Topics* 2004; 9: 66 - 78.
4. Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol* 1995; 11: 6 - 9.
5. Sen BH, Chugal NM, Liu H, Fleischmann J. A new method for studying the adhesion of *Candida albicans* to dentin in the presence or absence of smear layer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96: 201- 206.
6. Caviedes J, Muñoz H, y Meneses J. El paradigma del hidróxido de calcio en endodoncia: ¿Sustancia milagrosa? Pontificia Universidad Javeriana: Informe Grupo de Investigación. Especialización en Endodoncia inédito. Bogotá, 2006.
7. Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pécora JD. Control of microorganisms *in vitro* by calcium hydroxide pastes. *Int Endodontic J* 2001; 34: 341 - 345.
8. Teixeira K, Cortés M. Estado actual de la medicación antimicrobiana para la medicación intracanal. *Acta Odontológica Venezolana*. 2005; 43: 177 - 180.
9. Ercan E, Dalli M, Dulgergil CT. *In vitro* assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:e27-e31.
10. Zerella J, Fouad A, Spangberg L, Conn F. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100: 756 - 761.
11. Haapasalo M, Orstavik D. *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987; 6: 1375 - 1379.
12. Estrela C, Holland R. Calcium hydroxide: study based on scientific evidences. *J Appl Oral* 2003; 11: 269 - 282.
13. Ates M, Akdeniz B.G, Sen B.H. The effect of calcium chelating or binding agents on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100: 626 - 630.
14. Hosoya N, Takahashi G, Aral T, Nakamura J. Calcium concentration and pH of the periapical environment after applying calcium hydroxide into root canals *in vitro*. *J Endod* 2001; 27: 343 -346.
15. Heredia JM, Rodríguez S. Uso de la clorhexidina en endodoncia: revisión de la literatura. *RAOA* 2005; 93: 245 - 248.
16. Prado M. Monografía Clorhexidina [Trabajo de Grado]. Bogotá: Universidad Santo Tomás, Federación Odontológica Colombiana; 2001.
17. Siqueira JF, Rocas I, Lopes H, Magalhaes F, Uzeda M. Elimination of *Candida albicans* infection of the radicular dentin by intracanal medications. *J Endod* 2003; 29: 501 - 504.
18. Siqueira JF, de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine metronidazole and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod* 1997; 23: 167 - 169.
19. Barbosa C, Goncalves R, Siqueira J, De Uzeda M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J Endod* 1997; 23: 297 - 300.
20. Sen BH, Safavi KE, Spanberg L. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod* 1999; 25: 235 - 238.
21. Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TV, Mcpherson JC. *In vitro* antimicrobial activity of various medication preparations on *Enterococcus faecalis* in root canal dentin. *J Endod* 2003; 29: 187- 190.
22. Paquette L, Legner M, Fillery E, Friedman S. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication *in vivo*. *J Endod* 2007; 33: 789 - 795.
23. Komorowski R, Grad H, Yu wu X, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 2000; 26: 315 - 317.
24. Lenet BJ, Komorowski R, Huang J, Grad H, Lawrence HP, Friedman S. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endod* 2000; 26: 652 - 655.
25. Siqueira JF, Paiva S, Rocas I. Reduction in the cultivable bacterial populations in infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. *J Endod* 2007; 33: 541 - 546.
26. Coelho I, Roedel M, Chevitarese O. Ca⁺⁺ diffusion through dentin of Ca(OH)₂ associated with seven different vehicles. *J Endod* 2003; 29: 822 - 824.
27. Salazar AR, Sarmiento LK, Mora LM, Pérez PA. Evaluación *in vitro* del hipoclorito de sodio al 5.25% vs. el gluconato de clorhexidina al 0,2% como agente irrigante en presencia de infecciones en el canal radicular [Trabajo de Grado]. Bucaramanga: Universidad Santo Tomás; 2007.
28. Valera MC, Rego de Moraes J, Jorge A. Effect of sodium hypochlorite and five intracanal medications on *Candida albicans* in root canals. *J Endod* 2001; 27: 401 - 403.
29. Schafer E, Bossmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2005; 31: 53 - 55.
30. Soares IJ, Goldberg F. Endodoncia Técnicas y Fundamentos. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2003. Capítulo 5 y 6, págs. 56 - 57 y 69 -70.
31. Tobón D. Manual Básico de Endodoncia. Medellín: Corporación para la Investigación Biológica CIB 2003. Capítulo 6, págs.49 - 50
32. Randi CC, Figueiredo BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza FJ. *In vitro* assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001; 27: 452 - 455.
33. González-López S, Camejo-Aguilar D, Sánchez-Sánchez P, Bolaños-Carmona V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid or 17% EDTA. *J Endod* 2006; 32: 781 - 784.
34. Figueiredo BP, Vianna ME, Teixeira N, Zaia AA, Randi CC, Souza FJ. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity

- of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. J Endod 2006; 102: 544 - 550.
35. Menezes M, Valera MC, Jorge AOC, Koga - Ito CY, Camargo CHR, Mancini MN. *In vitro* of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J* 2004; 37: 311 - 319.
 36. Barthel CR, Zaritzki FF, Raab W. HM, Zimmer S. Bacterial leakage in roots filled with different medicaments and sealed with Cavit. *J Endod* 2006; 32: 127 - 129.
 37. Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders W.P. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an *in vitro* study. *J Endod* 2002; 28: 163 - 167.
 38. Basrani B, Ghanem A, Tjaderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide containing medications. *J Endod* 2004; 30: 413 - 417.
 39. Wuerch R, Apicela M, Mines P, Yancich P, Pashley D. Effect of 2% chlorhexidine gel as an intracanal medication on the apical seal of the root-canal system. *J Endod* 2004; 30: 788 - 791.
 40. Ferguson JW, Hatton FF, Gillespie MJ. Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. *J Endod* 2002; 28: 68 - 71.
 41. Haapasalo M, Quian W, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod* 2007; 33: 187 - 924.
 42. Madigan M, Martinko J, Parker J. Brock Biología de los microorganismos. 8ª Edición. España. Editorial Prentice Hall Inc, 2000, España. Capítulo 5, pág. 155-158.
 43. Wayne D. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. México: Editorial Noriega; 2000.
 44. Baumgartner J, Watts C, Xian T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod* 2000; 26: 695 - 697.
 45. Law A, Messer H. An evidence – based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. *J Endod* 2004; 30: 689 - 694.
 46. Miñana M, Carnes DL, Walker W. pH changes at the surface of root dentin after intracanal dressing with calcium oxide and calcium hydroxide. *J Endod* 2001; 27: 43 - 45.
 47. Solak H, Oztan MD. The pH changes of four different calcium hydroxide mixtures used for intracanal medication. *J Oral Rehab* 2003; 30: 436 - 439.
 48. Pacios MG, De la Casa ML, Bulacio MA, López ME. Influence of different vehicles on the pH of calcium hydroxide pastes. *J Oral Science* 2004; 46: 107 - 111.
 49. Rosenthal S, Spanberg L, Safavi K, Conn F. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98: 488 - 492.
 50. Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod* 1998; 24: 472 - 476.
 51. Caviedes J, Aguilar M, Álvarez J, Canales P y Reyes E. Irrigantes efectos sobre el tejido dental y periapical. Pontificia Universidad Javeriana: Informe Grupo de Investigación. Especialización en Endodoncia inédito. Bogotá; 2006.
 52. Estrela C, Bammann LL, Pécora JD. Control of microorganisms *in vitro* by endodontic irrigants. *Braz Dent J* 2003; 14: 187 - 192.
 53. Lekshmy D, Kamath PM. Antimicrobial efficacy of 0.2% and 2% chlorhexidine and sodium hypochlorite as root canal irrigants: an in vivo study. *Endodontology* 2001; 13: 57 - 62.



UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
PRIMER CLAUSTRO UNIVERSITARIO DE COLOMBIA
B U C A R A M A N G A

iHace País!

Facultad de Odontología



Experiencia y Calidad

CALL CENTER (7)6712677 - (7)6719493 - 01 8000 917044
www.ustabuca.edu.co