

Comparación de la actividad antifúngica *in vitro* del gluconato de clorhexidina 2% e hipoclorito de sodio 5,25% contra *Candida albicans*

In vitro antifungal activity comparison of 2% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite against Candida albicans

H. A. Alvarez-Chupillón*, J.P. Portocarrero-Mondragón**, K. Pardo-Aldave***

RESUMEN

Introducción: la presencia de especies fúngicas es evidente en el sistema del conducto radicular dental. **Objetivo:** comparar la actividad antifúngica in vitro de dos soluciones contra *Candida albicans*.

Metodología: Experimento *in vitro*. Se aislaron 90 muestras mediante hisopado de mucosa bucal de pacientes con estomatitis subprotésica, distribuidas en dos grupos: 45 con discos de NaOCl 5,25% y los otros 45 con discos de CHX 2%. Prueba de Shapiro Wilk, $p > 0,05$ y prueba Levene, $p > 0,05$. Se usó T de Student para la comparación.

Resultados: gluconato de clorhexidina 2% e hipoclorito de sodio 5,25% mostraron actividad antifúngica con halos de inhibición promedio de 24,6 mm y 25,2 mm, respectivamente.

Conclusión: No existen diferencias significativas entre los dos agentes estudiados.

PALABRAS CLAVE: *Candida albicans*, Clorhexidina, Hipoclorito de sodio (fuente: De CS).

ABSTRACT

Background: the presence of fungal species is evident in the dental root canal system.

Aim: to compare the in vitro antifungal activity of two solutions against *Candida albicans*.

Methods: In vitro experiment. 90 samples were isolated by swabbing the buccal mucosa from patients with sub-prosthetic stomatitis, distributed in two groups: 45 with 5.25% Na OCl discs and the other 45 with 2% CHX discs. Shapiro Wilk test, $p > 0.05$ and Levene test, $p > 0.05$. Student's t was used for comparison.

Results: 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite antifungal activity with mean inhibition halos of 24.6 mm and 25.2 mm, respectively. **Conclusion:** There are no significant differences between the two agents studied.

KEY WORDS: *Candida albicans*, Chlorhexidine, Sodium hypochlorite (source: MESH).

Fecha de recepción: 27 de mayo de 2021.

Fecha de aceptación: 10 de junio de 2021.

H. A. Alvarez-Chupillón, J.P. Portocarrero-Mondragón, K. Pardo-Aldave. *Comparación de la actividad antifúngica in vitro del gluconato de clorhexidina 2% e hipoclorito de sodio 5,25% contra Candida albicans*. 2022; 38 (2): 85-89.

* <https://orcid.org/0000-0001-9723-5540>. Mg, Centro Médico Odontológico Americano.

** <https://orcid.org/0000-0001-5459-8034>. Mg, Universidad Señor de Sipán, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Estomatología.

*** <https://orcid.org/0000-0002-5711-5971>. Mg, Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Odontología .

Sin fuente de financiación.

INTRODUCCIÓN

Según la literatura, varias especies bacterianas (gram negativas y gram positivas), dominadas por anaerobios obligados, han estado involucradas en la etiología de las infecciones endodónticas.⁽¹⁾ No obstante, la presencia de especies fúngicas es evidente en el sistema del conducto radicular, hasta en un 36%^(2,3), siendo el género *Candidaspp.* Y en especial consideración la especie *Candidaalbicans*, quien está más involucrada en las infecciones de este tipo,^(4,5) con una prevalencia del 8,20% en infecciones endodónticas primarias;⁽⁶⁾ y 20% en infecciones endodónticas secundarias,⁽⁷⁾ pudiendo estar relacionados con el fracaso del tratamiento endodóntico.⁽⁸⁾

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es considerado el irrigante con más frecuencia de uso en tratamientos de conductos en concentraciones de 0,5% a 6%.⁽⁹⁻¹²⁾ Así mismo, según varios estudios, la eficacia del NaOCl depende de su forma de cloro libre, influenciada por factores como: su concentración, tiempo de exposición, pH, y temperatura,⁽¹³⁾ que influyen en su potencial para disolver el tejido pulpar necrótico y desechos orgánicos del conducto radicular.^(11, 13) Sin embargo, existe una preocupación por su efecto tóxico en los tejidos periapicales a concentraciones más altas.⁽¹⁴⁾

Otro irrigante utilizado es el gluconato de clorhexidina (CHX), que tiene un espectro antimicrobiano muy amplio⁽¹⁵⁾, con efectos bacteriostáticos⁽¹⁶⁾; y característico por su ventaja de sustantividad, es decir, la capacidad de unirse a los tejidos orales blandos y duros, resultando un efecto duradero después de su administración.^(17,18)

Por otro lado, el uso simultáneo entre NaOCl y CHX, también es reportado; sin embargo, conduce a la formación de un precipitado naranja-marrón (para-cloroanilina), que puede obliterar los túbulos dentinarios e interferir con el sellado del relleno del conducto radicular.⁽¹⁹⁻²¹⁾ En consecuencia, a lo antes mencionado, además de tener en cuenta que las biopelículas endodónticas son un cúmulo de comunidades polimicrobianas (bacterias-hongos) resistentes a los irrigantes habituales, a la medicación intraconducto y a la inmunidad del huésped; es de suma importancia reconocer la diferencia en el potencial anti-

fúngico de dos de las sustancias consideradas de primera elección en el tratamiento del conducto radicular; como terapia conservadora odontológica, por lo cual el objetivo de esta investigación fue comparar la actividad antifúngica del gluconato de clorhexidina 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% contra *Candida albicans*.

MÉTODOS

ESTUDIO EXPERIMENTAL *IN VITRO*

Se tomaron 90 muestras mediante hisopado de la mucosa bucal de pacientes con diagnóstico de estomatitis subprotésica. Los participantes aceptaron voluntariamente participar de la investigación; además, se contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad de San Martín de Porres. De las muestras tomadas se procedió a aislar la *Candidaalbicans*, mediante cultivo denominado CHRO Magar™ *Candida* (CA220), el cual es considerado un medio con alta especificidad y sensibilidad para *Candidaalbicans*, preparándose según las indicaciones del fabricante, el cual recomendó 47,7 g/L para 1000 mL de agua purificada, además de según lo indicado por el Clinical and Laboratory Standard Institute.²²

CULTIVO DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron sembradas directamente en el medio de cultivo mencionado CHRO Magar™ *Candida* (CA220), e incubadas a 37°C 48h; se determinó la presencia o ausencia de crecimiento de colonias de *Candida albicans*, según los parámetros establecidos. Se realizó la prueba de tubo germinativo para confirmar la presencia de *Candida albicans* utilizando como medio de cultivo suero humano e incubándose a 37 °C 3 horas, observándose, al término del tiempo el crecimiento de una pseudo hifa, confirmado la presencia de la especie fúngica a estudiar.

PREPARACIÓN DE LOS DISCOS

Confirmada la presencia de *Candida albicans*, las 90 muestras fueron distribuidas en placas distintas incubadas mediante diseminación con agar Mueller Hinton (Difusión en agar con discos como método). Se procedió a separar las muestras en dos grupos experimentales: 45 con discos esterilizados Whatman de 5 mm de diámetro, embebidos previamente con 15 mL de NaOCl 5,25% y los otros 45 discos con 15 mL

Tabla 1. Comparación de actividad antifúngica del gluconato de clorhexidina 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% contra *Candida albicans*

Halo de inhibición (mm)				
Grupos experimentales	n	Media ± error estándar	Intervalo de confianza 95%	Valor p
Hipoclorito de sodio 5,25%	45	25,22 ± 0,91	[23,39 27,05]	0,56*
Gluconato de clorhexidina 2%	45	24,6 ± 0,55	[23,49 25,71]	

*Prueba t de student para dos grupos independientes.

p>0,05; no significativo.

Fuente: elaboración propia

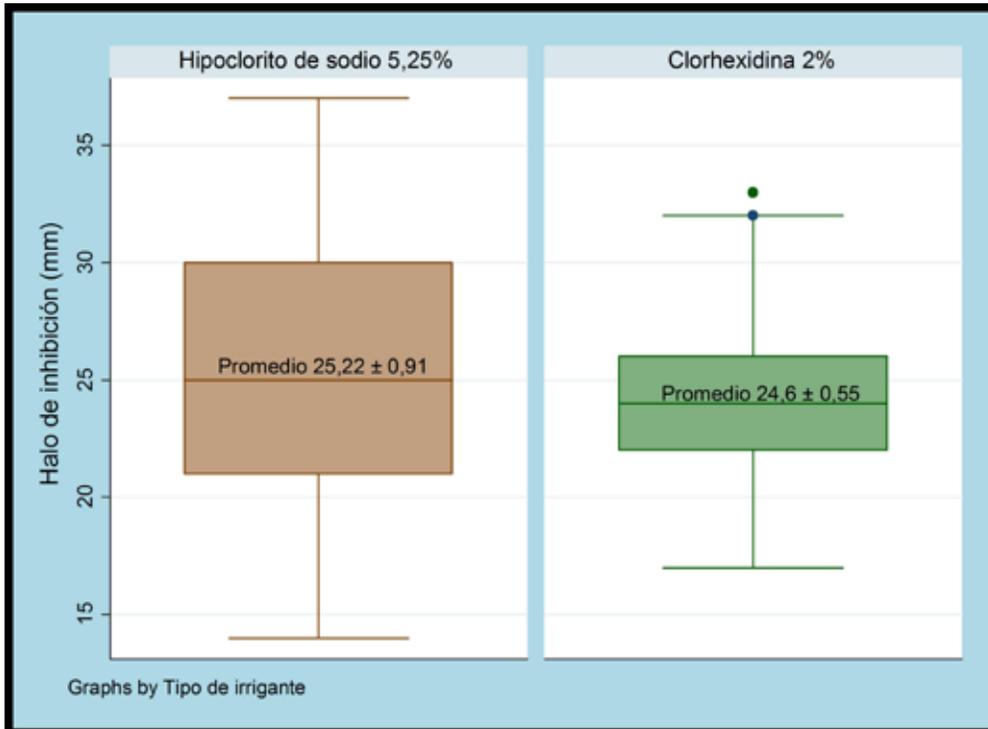


Fig. 1 Comparación de actividad antifúngica del gluconato de clorhexidina 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% contra *Candida albicans*. / **Fuente:** elaboración propia.

de CHX 2%.Las placas se incubaron a 37°C por 24h, realizándose la lectura de los halos de inhibición antifúngica midiéndola longitud de su diámetro. El registro de los diámetros fue en mm con una regla milimetrada digital, registrando los resultados en la ficha de trabajo correspondiente.

ANÁLISIS

Se aplicó paquete estadístico Stata 14.0 para Windows Corporation (Stata, Texas, EE.UU.) Se cumplió con los supuestos de normalidad (Prueba de Shapiro Wilk, p > 0,05) y de homogeneidad de varianzas (prueba Levene, p > 0,05), y se aplicó la prueba estadística de T de Student, para establecer y estimar la comparación, que fue el objetivo de la investigación. Las Zonas de inhibición del crecimiento antifúngico se descri-

bieron en medias y error estándar (Tabla 1).

RESULTADOS

De los 90 cultivos de *Candida albicans*, se asignaron equitativamente 45 cultivos a cada uno de los grupos experimentales: hipoclorito de sodio al 5,25% y gluconato de clorhexidina al 2%, respectivamente.

Posterior a la comparación de la actividad antifúngica de hipoclorito de sodio 5,25% y gluconato de clorhexidina 2% sobre la *Candida albicans*, mediante la Prueba t de Student (p>0,05 no significativo) resultó un valor p 0,56* entre los grupos independientes experimentales (figura 1).

Al evaluar el halo de inhibición, según la actividad antifúngica del hipoclorito de sodio al 5,25% contra clorhexidina al 2% se encontró medias ± error estándar de 25,22 ± 0,91 y 24,6 ± 0,55 e intervalos de confianza

al 95% de [23,3927,05] y [23,4925,71], respectivamente. Se cumplió con los supuestos de normalidad (Prueba de Shapiro Wilk, p > 0,05) y de homogeneidad de varianzas (prueba Levene, p > 0,05).

DISCUSIÓN

En nuestro estudio evaluamos la actividad antifúngica de NaOCl 5,25% y CHX 2% contra la *Candida albicans*, además, de someterlas a comparación, con la finalidad de optar por nuevas opciones de irrigación endodóntica frente a microorganismos presentes en enfermedades endodónticas persistentes.

Según la literatura, el Na OCl y CHX, son los irrigantes con mayor potencial antifúngico utilizados durante la terapia endodóntica,^(2, 4, 11, 14, 23, 24)

dependiendo de su concentración y del tiempo de exposición se puede observar una mayor o menor actividad antifúngica; como por ejemplo, en el trabajo de Awawdehet al. ⁽¹⁴⁾, se evidenció un halo de inhibición de 81 mm contra cepas de *Candida albicans* utilizando Na OCl 3%, siendo muy distinto al estudio de Ndiaye et al. ⁽⁴⁾, quienes obtuvieron un halo de inhibición de 33 mm utilizando NaOCl 2,5%, y en la investigación de Noushad, et al. ⁽²⁵⁾, utilizando NaOCl 5,25% dieron como resultado un diámetro medio de 20 mm para *Candida albicans*.

Nuestro estudio coincide considerablemente con lo demostrado por Noushad et al. ⁽²⁵⁾, evidenciando un halo de inhibición promedio de 25,2 mm; no teniendo coincidencia con el de Awawdeh et al. ⁽¹⁴⁾ y Ndiaye et al. ⁽⁴⁾, pues las concentraciones utilizadas en estos últimos difieren considerablemente con los utilizados en esta presente investigación.

Revisando la actividad antifúngica de CHX 2% contra *Candida albicans*, Awawdeh et al. ⁽¹⁴⁾, evidenciaron un halo de inhibición de 50 mm, a diferencia de la investigación de Shino et al. ⁽²³⁾, quienes demostraron una efectividad significativa, con una zona media de inhibición de 21,8 mm utilizando CHX 0,2%; sin embargo, en la investigación de Ndiaye et al. ⁽²⁶⁾, utilizando una concentración de CHX 0,5%, se obtuvo un diámetro de inhibición promedio de 11 mm. Nuestro trabajo de investigación utilizó CHX 2% y obtuvo un halo de inhibición promedio de 24,6 mm, siendo coincidente con los resultados obtenidos por Shino et al. ⁽²³⁾, y distinto a los antes mencionados. ^(14, 26)

Candida albicans es considerada como un comensal inofensivo, con el potencial de convertirse en patógeno oportunista y causar infecciones. ⁽²⁷⁾ Por lo que, al haber obtenido los resultados plasmados en esta investigación con halos de inhibición promedio de $25,22 \pm 0,91$ y $24,6 \pm 0,55$, para Hipoclorito de sodio 5,25% y Gluconato de clorhexidina 2%; respectivamente, recomendamos se realicen estudios con una muestra mayor a la estudiada, y con una evaluación del potencial antifúngico, en diferentes concentraciones (10%, 15% para Na OCl; y 4%, 5% para CHX), considerando las concentraciones mínimas y máximas inhibitorias fungicidas; además, mediante un diseño longitudinal, (1 hora, 6 horas en inclusive a la semana) pues su comportamiento como patógeno

fúngico a nivel radicular es impredecible, teniendo en cuenta que las sustancias estudiadas pueden utilizarse como medicamentos intraconductos sinérgicos a otros, durante el tratamiento endodóntico; ⁽¹²⁻¹⁴⁾ con la finalidad de contribuir con estrategias de mínima intervención, durante los procedimientos odontológicos invasivos, como es el tratamiento del conducto radicular, y de esa manera prevalecer la filosofía de una odontología de mínima intervención, basada en evidencia científica.

CONCLUSIÓN

Al finalizar nuestro estudio, concluimos que tanto el hipoclorito de sodio 5,25% y la clorhexidina 2% presentaron una acción antifúngica similar contra *Candida albicans*, no hallándose diferencias significativas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nóbrega LM., Montagner F., Ribeiro AC., Mayer MA., Gomes BP. Bacterial diversity of symptomatic primary endodontic infection by clonal analysis. *Braz Oral Res*, 30(1), e103(2016).
2. Karale R., Odedra KM., Sreerikha A., Champa C., Shetty A., Pushpalatha S., et al. Effect of dentin on the antimicrobial efficacy of 3% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, 17% ethylenediaminetetraacetic acid, and 18% etidronic acid on *Candida albicans*: An in vitro study. *J Conserv Dent*, 19(5), 455-60 (2016).
3. Bernal-Treviño A., González-Amaro AM., Méndez-González V., Pozos-Guillen A. Frecuencia de *Candida* en conductos radiculares de dientes con infección endodóntica primaria y persistente. *Rev Iberoam Micol*, 35(2), 78-82 (2018).
4. Sen BH., Baksi BG. Endodontic microbiology: Fungi in endodontic infections. In: Fouad AF Editor. USA (2009).
5. Siqueira JF., Rôças IN., *Essential Endodontology: Prevention and Treatment of Apical Periodontitis*, Third Edition. Dag Ørstavik. USA (2019).
6. Mergoni G., Percudani D., Lodi G., Bertani P., Manfredi M. Prevalence of *Candida* Species in Endodontic Infections: Systematic Review and Meta-analysis. *J Endod*, 44(11):1616-1625.e9 (2018).
7. Pourhajibagher M., Ghorbanzadeh R., Bahador A. Culture-dependent approaches to explore the prevalence of root canal pathogens from endodontic infections. *Braz Oral Res*. 31: e108 (2017).
8. Lima SM., Sousa MG., Freire M., Alves J., Castro AP., Machado TA., et al. Immune Response Profile against Persistent Endodontic Pathogens *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* In Vitro. *J Endod*, 41(7):1061-5 (2015).
9. Samiei M., Shahi S., Abdollahi AA., Eskandarinezhad

- M., Negahdari R., Pakseresht Z. The Antibacterial Efficacy of Photo-Activated Disinfection, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Infected Root Canals: An in Vitro Study. *Iran Endod J*, 11(3),179–83 (2016)
10. Yang Y., Shen Y., Wang Z., Huang X., Maezono H., Ma J., Cao Y., Haapasalo M. Evaluation of the Susceptibility of Multispecies Biofilms in Dentinal Tubules to Disinfecting Solutions. *J. Endod*, 42, 1246–50 (2016).
11. Jose J., Krishnamma S., Peedikayil F., Amaan S., Tomy N., Mariodan JP. Comparative evaluation of antimicrobial activity of QMiX, 2.5% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, guava leaf extract and Aloe vera extract against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* – An in-vitro study. *J Clin Diagnostic Res*, 10, ZC20–3 (2016).
12. Arias-Moliz MT., Morago A., Ordinola-Zapata R., Ferrer-Luque CM., Ruiz-Linares M., Baca P. Effects of dentin debris on the antimicrobial properties of sodium hypochlorite and etidronic acid. *J Endod*, 42(5),771–5 (2016).
13. Dumitriu D., Dobre T. Effects of temperature and hypochlorite concentration on the rate of collagen dissolution. *J Endod*, 41(6), 903–6 (2015).
14. Awawdeh L., Jamleh A., Al-Beitawi M. The Antifungal Effect of Propolis Endodontic Irrigant with Three Other Irrigation Solutions in Presence and Absence of Smear Layer: An In Vitro Study. *Iran Endod J*, 13(2), 234–9 (2018).
15. Bernardi A., Teixeira CS. The properties of chlorhexidine and undesired effects of its use in endodontics. *Quintessence Int*, 46 (7), 575–82 (2015).
16. Tartari T., Wichnieski C., Bachmann L., Jafelicci M., Silva RM., Letra A., et al. Effect of the combination of several irrigantson dentine surface properties, adsorption of chlorhexidine and adhesion of microorganisms to dentine. *International Endodontic Journal*, 51(12), 1420-1433 (2018).
17. Mohammadi Z., Giardino L., Palazzi F., Asgary S. Agonistic and antagonistic interactions between chlorhexidine and other endodontic agents: A critical review. *Iran Endod J*, 10(1), 1–5 (2015).
18. Scheibler E., Garcia M., Medina da Silva R., Figueiredo MA., Salum FG., Cherubini K. Use of nystatin and chlorhexidine in oral medicine: Properties, indications and pitfalls with focus on geriatric patients. *Gerodontology*, 34(3), 291-98 (2017).
19. Medvedec I., Cigic L., Kero D., Kalibovic D., Prpic G., Tambic A., Simeon P. Antimicrobial effectiveness of polyhexamethylenebiguanide on *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans*. *Med. Glas*, 15 (2), 132–138 (2018).
20. Nocca G., Ahmed HM., Martorana GE., Callà C., Gambarini G., Rengo S., et al. Chromographic analysis and cytotoxic effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite reaction mixtures. *J Endod*, 43(9),1545–1552 (2017).
21. Piperidou M., Sodhi RM., Kolosowski KP., Basrani BR. Effects of Final Irrigation with SmearOFF on the Surface of Dentin Using Surface Analytical Methods. *J Endod*, 44(11), 1714–1719 (2018).
22. Clinical and Laboratory Standard Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Third informational supplement. 28(15), M27-S3 (2008).
23. Shino B., Peedikayil FC., Jaiprakash SR., Ahmed-Bijapur G., Kottayi S., Jose D. Comparison of Antimicrobial Activity of Chlorhexidine, Coconut Oil, Probiotics, and Ketoconazole on *Candida albicans* Isolated in Children with Early Childhood Caries: An In Vitro Study. *Scientifica (Cairo)*, 2016, ID 7061587 (2016).
24. Ghivari SB., Bhattacharya H., Bhat KG., Pujar MA. Antimicrobial activity of root canal irrigants against biofilm forming pathogens- An in vitro study. *J Conserv Dent*, 20(3), 147-151 (2017).
25. Noushad MC., Balan B., Basheer S. SB Usman, Muhammed-Askar MK. Antimicrobial efficacy of different natural extracts against persistent root canal pathogens: An in vitro study. *Contemp Clin Dent*, 9, 177-181 (2018).
26. Ndiaye D., Diongue K., Bane K., Seck A., Niang SO., Lèye Benoist F., et al. Efficacy of sodium hydroxide at 2.5 %, chlorhexidine gluconate at 0.5 % and calcium hydroxide against *Candida albicans*. *J MycolMed*, 26(4), 317-322 (2016).
27. Mayer FL., Wilson D., Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119-128 (2013).

CORRESPONDENCIA

Hugo Antonio ÁlvarezChupillón.
hugo.alvarez@coa.pe