

Eficacia de diferentes agentes desinfectantes en la remoción de *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* adheridos a resina acrílica de termocurado

Mariella Calderón-Valencia¹,
Hilda Moromi-Nakata²

Efficacy of different disinfectants on removing *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis* adhered to thermo cured acrylic resin

1. Escuela académico profesional. Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

2. Departamento académico de ciencias básicas. Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de tres desinfectantes en la remoción de *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* adheridos a resina acrílica de termocurado. **Metodología:** Se confeccionaron 51 piezas de resinas acrílicas de termocurado mediante patrones de cera con las mismas dimensiones (15mm x 15mm x 4mm) y se sometieron a un sistema de pulido simulando el de las prótesis completas. Las piezas se esterilizaron en autoclave (121 °C x 15min) y luego fueron contaminadas con cultivos de las cepas de *C. albicans* ATCC, *S. mutans* ATCC y *E. faecalis* ATCC. Luego de la contaminación fueron expuestas a los agentes desinfectantes NaClO 0,5 %, clorhexidina 0,12 % y un peróxido alcalino durante 5 min. Las muestras obtenidas a partir de las resinas fueron sembradas en placas Petri y se observaron los resultados a las 24h para verificar la remoción o no de los microorganismos. **Resultados:** Los resultados fueron analizados con las pruebas estadísticas Chi-cuadrado y Kruskal-Wallis. Los grupos *C. albicans* y *E. faecalis* mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre los tres agentes desinfectantes p=0.001 y p=0.000 respectivamente. **Conclusiones:** El NaClO 0,5 % y clorhexidina 0,12 % tienen una mayor eficacia que las pastillas efervescentes Corega Tabs® en la remoción de *C. albicans* y *E. faecalis* adheridos a resina acrílica de termocurado. Los tres agentes desinfectantes fueron eficaces en la remoción de *S. mutans*.

Palabras clave: *C. albicans*, *S. mutans*; *E. faecalis*; Resina acrílica de termocurado; Desinfectante

Abstract

The objective of this study was to evaluate the efficacy of three disinfectant solutions, on removing *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus mutans* adhered to thermo cured acrylic resin. **Methodology:** 51 pieces of thermo cured acrylic resin were prepared using wax patterns with the same dimensions (15mm x 15mm x 4mm) and subjected to a polishing system simulating complete dentures. The pieces were autoclaved (121 °C x 15min), and then contaminated with strains of *C. albicans* ATCC, *S. mutans* ATCC and *E. faecalis* ATCC. After contamination they were exposed to 0.5% NaClO, 0.12% chlorhexidine and an alkaline peroxide disinfectants for 5 min. Samples obtained from the resins were seeded in Petri plates and results were observed at 24 hours to verify the removal of the microorganisms. **Results:** The results were analyzed with Chi-square and Kruskal-Wallis tests. *C. albicans* and *E. faecalis* groups showed a statistically significant difference between the three disinfectants, p=0.001 and p=0.000 respectively. **Conclusions:** NaOCl 0.5% and chlorhexidine 0.12% have a greater efficacy than effervescent tablets Corega Tabs® in removing *C. albicans* and *E. faecalis* adhered to thermo cured acrylic resin. The three disinfectants were effective in removing *S. mutans*.

Keywords: *C. albicans*, *S. mutans*; *E. faecalis*; Thermo cured acrylic resin; Disinfectant.

Correspondencia

C.D. Mariella Calderón-Valencia

Jr. Lurín Psje 1 Mz. A Block A Lt 5 Urb. Laderas de la Molina, Lima 12, Perú.

Correo electrónico:
mcalderonvalencia@gmail.com

Coautora:
Moromi-Nakata: hmnbio@hotmail.com

Fecha de recepción: 04-06-14

Fecha de aceptación: 31-10-14

Introducción

A pesar de todos los avances en odontología, las prótesis removibles, son todavía esenciales para la rehabilitación oral de los edéntulos parciales y totales. Sin embargo, este tipo de prótesis, cuya base es básicamente confeccionada con acrílico termo activado de resina, constituye un medio favorable para la colonización y proliferación de diversos

microorganismos, ya que éstos poseen la habilidad de adherirse al polimetilmetacrilato, el cual es componente de las resinas acrílicas¹.

El biofilm de las prótesis es definido como una densa capa microbiana formada por microorganismos y sus productos metabólicos, constituidos por más de 10 microorganismos por gramo de peso^{2,11}. Los microorganismos pre-

sentes inician la colonización y forman el biofilm patogénico, pudiendo ser perjudicial tanto para la mucosa oral como para la salud general del paciente, causando principalmente infecciones locales³.

Las especies de *Candida*, en especial *Candida albicans*, son los principales patógenos para el desarrollo de la estomatitis protésica, la cual es la infección

más común en los portadores de prótesis removibles. Prótesis dentales mal adaptadas, las bases de las mismas y la falta de higiene oral son las causas más frecuentes de esta infección oportunista⁴. *Candida* conjuntamente con el *S. aureus* y *S. mutans* son las especies más frecuentemente aisladas en las prótesis. Por otro lado *E. faecalis* presentes en la mucosa bucal, lengua, placa etc, por su capacidad de adherencia y capacidad de resistencia son importantes indicadores en la evaluación de la eficacia de diversos productos utilizados en la cavidad bucal^{5,6}.

Los microorganismos seleccionados comparten alguno de los mecanismos de fijación a la superficie que en una primera fase es inespecífico y reversible y se explica por medio de energía de superficie entre los microorganismos y la superficie de la prótesis, interviniendo fenómenos electrostáticos y de hidrofobicidad; en una segunda fase, el proceso de la adhesión esta mediado por interacciones entre adhesinas y receptores específicos⁵.

Por otro lado, la limpieza de las prótesis por parte del paciente no siempre es correcta, ya sea por falta de orientación por parte del cirujano dentista, negligencia del paciente, uso general sólo de agua, cepillo y jabón, la disminución de la destreza manual de los pacientes, características anatómicas de las prótesis, tipo y calidad del acrílico, defectos en la confección de las bases de las prótesis,

o por la ineficacia de la mayoría de los productos comerciales para la limpieza química de las mismas⁴. Estos factores pueden favorecer la formación del biofilm y evitar su correcta remoción.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia de diferentes agentes antimicrobianos como el hipoclorito de sodio al 0,5 %, la clorhexidina al 0,12 % (Bucoxidina) y un peróxido alcalino (Corega Tabs®), en la remoción de microorganismos adheridos a resina acrílica de termocurado.

Materiales y Método

Se confeccionaron 51 piezas de resina acrílica de termocurado (Vitacryl), a partir de patrones de cera con las mismas dimensiones (15mm x 15 mm x 4 mm), simulando rugosidades en una de las superficies. Dichas piezas se sometieron a un proceso de pulido, simulando al de las prótesis completas. Las resinas se dividieron en tres grupos experimentales para las cepas de: *C. albicans*, *S. mutans* y *E. faecalis*. Cada grupo estuvo conformado por 17 resinas, las cuales se distribuyeron de la siguiente manera: dos para el control negativo, 1 para el control positivo y las 14 restantes, según el agente desinfectante a utilizar (5 para NaClO 0,5 %, 5 para clorhexidina 0,12 % y 4 para un peróxido alcalino (pastillas efervescentes Corega Tabs®). Finalmente, se esterilizaron en autoclave (121 °C x 15 min).

Las muestras se contaminaron mediante un inóculo de un cultivo bacteriano a concentración de 0,5 de la escala de Mc Farland correspondiente a 106 UFC de las cepas patrones de *S. mutans*, *C. albicans* y *E. faecalis* a la incubación de 37 °C por 24-48 horas. Se utilizaron los caldos triplicasa soya (TSB) para *S. mutans* y *C. albicans*, y BHI para *E. faecalis*. Para el control positivo, se utilizaron las resinas contaminadas con cada bacteria y para el control negativo se utilizaron las resinas de los cultivos sin inóculo.

Después de la inoculación, las muestras se distribuyeron en 3 grupos y se sometieron a los siguientes desinfectantes: D1 (hipoclorito de sodio al 0,5 %), D2 (gluconato de clorhexidina 0,12 %) Bucoxidina y D3 (peróxido alcalino - pastilla efervescente Corega Tabs®), durante 5 minutos.

Tres resinas de los grupos *C. albicans* y *S. mutans*, y dos resinas de *E. faecalis* se enjuagaron con agua destilada estéril. Posteriormente se tomaron muestras de cada una de las resinas y se realizaron las siembras en los respectivos medios de cultivo: Agar Sabouraud para *C. albicans*, Agar Tripticasa soya (TSA) para *S. mutans* y Agar Bilis Esculina para *E. faecalis*. Las placas Petri se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Finalmente se evaluó el crecimiento bacteriano en los grupos control positivo y negativo, así como según el agente desinfectante empleado.

Resultados

Tabla 1. Crecimiento de *Candida albicans* según el agente desinfectante

Desinfectante	Si		No		Total	
	f	%	f	%	f	%
NaClO 0.5%	0	0%	5	35.7%	5	35.7%
Clorhexidina 0.12%	0	0%	5	35.7%	5	35.7%
Corega Tabs®	4	28.6%	0	0%	4	28.6%
Total	4	28.6%	10	71.4%	14	100%

Tabla 2. Crecimiento de *Streptococcus mutans* según el agente desinfectante

Desinfectante	Si		No		Total	
	f	%	f	%	f	%
NaClO 0.5%	0	0%	5	35.7%	5	35.7%
Clorhexidina 0.12%	0	0%	5	35.7%	5	35.7%
Corega Tabs®	0	0%	4	28.6%	4	28.6%
Total	0	0%	14	100%	14	100%

Tabla 3. Crecimiento de *Enterococcus faecalis* según el agente desinfectante

Desinfectante	Si		No		Total	
	f	%	f	%	f	%
NaClO 0.5%	0	0%	5	35.7%	5	35.7%
Clorhexidina 0.12%	0	0%	5	35.7%	5	35.7%
Corega Tabs®	1	7.15%	3	21.45%	4	28.6%
Total	1	7.15%	13	92.85%	14	100%

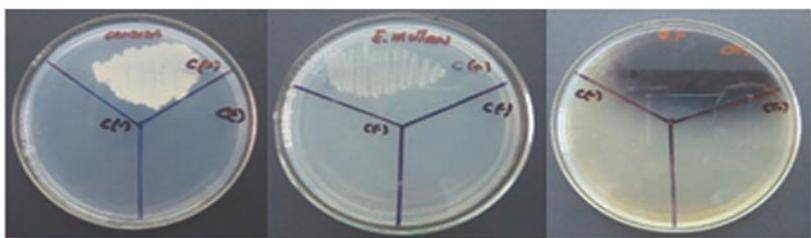


Fig. 1. Crecimiento de *C. albicans*, *S. mutans* y *E. faecalis* en grupos control positivo y negativo, respectivamente

Los resultados evidenciaron el crecimiento bacteriano en los controles positivos de cada grupo (*C. albicans*, *S. mutans* y *E. faecalis*), por el contrario, no hubo crecimiento bacteriano en ninguno de los controles negativos (Fig 1).

Para el grupo *C. albicans*, no se observó crecimiento bacteriano en ninguna de las resinas desinfectadas con NaClO al 0,5 % o con clorhexidina al 0,12 %. Sin embargo, sí se evidenció crecimiento bacteriano en las cuatro resinas desinfectadas con el peróxido alcalino (Corega Tabs) (Tabla 1 y Fig 2). Para estos últimos casos, se realizó el conteo de UFC: 1 SL (resina sin lavar) > 1000 UFC; 2SL = 95 UFC, 1 L (resina Lavada) > 1000 UFC, 2L = 386 UFC



Fig. 2. Cultivo en Agar Sabouraud para la recuperación de *C. albicans* a partir de resinas desinfectadas con NaClO 0.5 %, clorhexidina 0.12 % y peróxido alcalino (Corega Tabs), respectivamente

Para los grupos *S. mutans*, no se observó crecimiento bacteriano en ninguna de las resinas desinfectadas con NaClO al 0,5 %, clorhexidina al 0,12 % o peróxido alcalino (Corega Tabs) (Tabla 2 y Fig 3).



Fig. 3. Cultivo en Agar Tripticasa soya (TSA) para la recuperación de *S. mutans* a partir de resinas desinfectadas con NaClO 0.5 % clorhexidina 0.12 % y peróxido alcalino (Corega Tabs), respectivamente

No se observó crecimiento bacteriano en ninguna de las resinas desinfectadas con NaClO al 0,5 % o con clorhexidina al 0,12 % pertenecientes al grupo *E. faecalis*. Sin embargo, se evidenció crecimiento bacteriano solamente en una las resinas desinfectadas con peróxido alcalino (Corega Tabs) que no se enjuagaron en agua destilada estéril. Para este caso particular, se realizó el conteo de UFC: 2SL=3 UFC (Tabla 3 y Fig 4).



Fig. 4. Cultivo en Agar Bilis Esculina para la recuperación de *E. faecalis* a partir de resinas desinfectadas con NaClO 0.5 %, clorhexidina 0.12 % y peróxido alcalino (Corega Tabs), respectivamente

Los resultados fueron analizados con las pruebas estadísticas Chi-cuadrado y Kruskal-Wallis. Sólo los grupos *C. albicans* y *E. faecalis* mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre los tres agentes desinfectantes ($p=0.001$ y $p=0.000$ respectivamente).

Discusión

La limpieza de las prótesis por parte del paciente no siempre es correcta, ya sea por negligencia de éste, falta de orientación por parte del cirujano dentista, las características anatómicas de las prótesis, la disminución de la destreza manual de los pacientes o por la ineficacia de la mayoría de los productos comerciales para la limpieza química de las prótesis⁴. Peracini et al,⁸ afirmaron lo expuesto anteriormente, al concluir en su estudio del 2010 que pacientes portadores de prótesis tenían un limitado conocimiento sobre la higiene de las mismas, así como de su cuidado bucal. Así mismo, Takamiya et al,⁹ concluyeron que los pacientes portadores de prótesis removibles, necesitaban motivación e instrucciones concernientes a la limpieza de las mismas, así como su remoción durante la noche. En adición, en el 2010, Sadig¹⁰ concluyó que la predisposición de los factores de estomatitis protésica está asociada al método de higiene de las prótesis y el uso de éstas al momento de dormir. Y que es responsabilidad de los odontólogos proporcionar de forma rutinaria, después de la colocación de prótesis, instrucciones de higiene para educar y motivar al paciente.

Es necesario un control efectivo del biofilm con una adecuada higiene de la prótesis, puesto que la adherencia de los microorganismos y residuos es favorecida por las superficies irregulares y rugosas de las mismas, que reducen la efectividad de los agentes de limpieza⁷. Una adecuada higiene de las prótesis es un factor importante para el mantenimiento de la salud de los tejidos orales, así como la salud en general, especialmente en personas de edad³.

El NaClO 0,5 % es uno de los agentes desinfectantes más eficaces en la remoción de *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *E. faecalis* adheridos a resina acrílica de termocurado, tal como lo afirman Ferreira et al⁷ en el 2009, y Rossato et al¹¹ en el año 2011, con la diferencia de que en ambos estudios se utilizó el NaClO 0,5 % durante 10

minutos, mientras que en la presente investigación fue solamente por un período de 5 minutos.

La clorhexidina al 0,12 % es el otro agente desinfectante con mayor eficacia en la remoción de las cepas de *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *E. faecalis* adheridas a resina acrílica de termocurado, tal y como lo afirman Sousa et al¹ en el año 2009 y De Andrade et al¹² en el 2012, con la diferencia de que este último estudio utilizó la clorhexidina al 0,12% una período de 20 minutos para la eliminación del biofilm.

El peróxido alcalino (Corega Tabs) fue el menos eficaz en la remoción de especies de *Candida albicans* y *E. faecalis* adheridas a resina acrílica de termocurado, tal y como expusieron Rossato et al¹¹ en el 2011, quienes afirmaron que las pastillas efervescentes Corega Tabs® deben ser usadas durante 30 minutos para que la eficacia de limpieza sea similar al del hipoclorito alcalino. En adición, Uladamar et al¹³, quienes evaluaron la eficacia de diferentes marcas de pastillas efervescentes, concluyeron que sólo con Fittydent se mostró una aparente reducción del número de *Candida spp.*, sólo después de 60 minutos de tratamiento; lo que nos indica que los peróxidos alcalinos deben ser utilizados por intervalos de tiempo más prolongados para ser eficaces. Sin embargo, en el 2010, Srinivasan et al¹⁴, concluyeron que el uso de pastillas efervescentes Corega Tabs, reduce el número de microorganismos en comparación con simples métodos de limpieza manuales en prótesis completas.

Conclusiones

- El hipoclorito de sodio al 0,5 % y la clorhexidina al 0,12 % son más eficaces que el peróxido alcalino (pastillas efervescentes Corega Tabs) en la remoción de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* adheridos a resina acrílica de termocurado.
- No existe diferencia entre la eficacia del hipoclorito de sodio al 0,5 % y la clorhexidina al 0,12 % en la remoción de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* adheridos a resina acrílica de termocurado.

- El hipoclorito de sodio al 0,5 %, la clorhexidina al 0,12 % y el peróxido alcalino (pastillas efervescentes Corega Tabs) fueron eficaces en la remoción de *Streptococcus mutans* adheridos a resina acrílica de termocurado
- Para un control efectivo de la prótesis debe complementarse a la adecuada higiene, la eliminación de microorganismos del biofilm, considerando el tiempo requerido para asegurar su eficacia.

Referencias bibliográficas

1. Sousa FA, Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO. Effect of sodium bicarbonate on *Candida albicans* adherence to thermally activated acrylic resin. *Braz Oral Res.* 2009 Oct-Dec;23(4):381-5.
2. Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza-Gugelmin MC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Paranhos Hde F. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. *J Appl Oral Sci.* 2011 Nov-Dec;19(6):668-73.
3. Paranhos HF, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Cruz PC, de Freitas-Pontes KM, Watanabe E, Ito IY. Effect of Three Methods for Cleaning Dentures on Biofilms Formed In Vitro on Acrylic Resin. *J Prosthodont.* 2009 Jul;18(5):427-31.
4. Peracini A. Solucoes higienizadoras de prótese total: avaliacao da remocao de biofilme e efeito sobre propiedades da resina acrílica termopolimerizável. Tese. Faculdade de Odontologia de Ribeirao Preto da Universidade de Sao Paulo. 2012
5. Rubio D. Estudio de la capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano de los adhesivos autograbantes frente a gérmenes de la cavidad oral. Tesis. Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid. 2013
6. Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martínez F, Aldape-Barrios B, Quindós G, Sánchez-Vargas LO. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2005;10:27-39
7. Ferreira MA, Pereira-Cenci T, Rodrigues de Vasconcelos LM, Rodrigues-Garcia RC, Del Bel Cury AA. Efficacy of denture cleansers on denture liners contaminated with *Candida* species. *Clin Oral Investig.* 2009 Jun;13(2):237-42
8. Peracini A, Andrade IM, Paranhos Hde F, Silva CH, de Souza RF. Behaviors and Hygiene Habits of Complete Denture Wearers. *Braz Dent J.* 2010;21(3):247-52.
9. Takamiya AS, Monteiro DR, Barão VA, Pero AC, Compagnoni MA, Barbosa DB. Complete denture hygiene and nocturnal wearing habits among patients attending the Prosthodontic Department in a Dental University in Brazil. *Gerodontology.* 2011 Jun;28(2):91-6.
10. Sadig W. The denture hygiene, denture stomatitis and role of dental hygienist. *Int J Dent Hyg.* 2010 Aug;8(3):227-31.
11. Rossato MB, Unfer B, May LG, Braun KO. Analysis of the Effectiveness of Different Hygiene Procedures Used in Dental Prostheses. *Oral Health Prev Dent.* 2011;9(3):221-7.
12. De Andrade IM, Cruz PC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Souza-Gugelmin MC, Paranhos Hde F. Effect of Chlorhexidine on Denture Biofilm Accumulation. *J Prosthodont.* 2012 Jan;21(1):2-6.
13. Uludamar A, Ozkan YK, Kadir T, Ceyhan I. In vivo efficacy of alkaline peroxide tablets and mouthwashes on *Candida albicans* in patients with denture stomatitis. *J Appl Oral Sci.* 2010 May-Jun;18(3):291-6.
14. Srinivasan M, Gulabani M. A microbiological evaluation of the use of denture cleansers in combination with an oral rinse in complete denture patients. *Indian J Dent Res.* 2010 Jul-Sep;21(3):353-6.