

ESTUDIO *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE UN CEMENTO ENDODÓNTICO SOBRE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS COMUNES EN CONDUCTOS NECRÓTICOS*

Liliana Mosquera Rivera, Luis Felipe Upegui Jiménez

RESUMEN. Mosquera L, Upegui LF. Estudio "in vitro" del efecto antimicrobiano de un cemento endodóntico sobre microorganismos anaerobios comunes en conductos necróticos. *CES Odont* 1996; 9: 90-93. Este estudio se realizó con el fin de evaluar el efecto antimicrobiano de la "Pasta Proquident" sobre los microorganismos anaerobios estrictos más frecuentes en conductos radiculares necróticos. Se utilizaron los métodos de difusión en agar y dilución en caldo. Las bacterias seleccionadas fueron: *Prevotella intermedia*, *Porphyromona endodontalis*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromona gingivalis* y *Prevotella oralis*. Se hicieron lecturas a los tres, seis y nueve días en el método de difusión en agar y a los dos, cuatro y seis días en el método de dilución en caldo. Se encontró que la "Pasta Proquident" tiene efecto bactericida sobre los gérmenes anaerobios estudiados y que tal efecto se prolongó durante el tiempo de observación. Esto significa que el cemento no pierde su efecto antibacteriano después del fraguado.

Palabras clave: Cemento endodóntico, Efecto antimicrobiano, Anaerobios.

ABSTRACT. Mosquera L, Upegui LF. "In vitro" study of the effect of an antimicrobial endodontic cement on common anaerobic microorganisms in necrotic root canals. *CES Odont* 1996; 9: 90-93. This study was done in order to evaluate the antimicrobial effect of an endodontic cement (Pasta Proquident) on strict anaerobic microorganisms most frequently found in necrotic root canals. Agar diffusion and dilution in half liquid tests were performed. The bacteria chosen were: *Prevotella intermedia*, *Porphyromona endodontalis*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromona gingivalis* and *Prevotella oralis*. Observations were done on days 3, 6 and 9 for the agar diffusion test, and on days 2, 4 and 6 for the dilution test. The cement (Pasta Proquident) was found to have a bactericide effect on the anaerobic bacteria studied and its effect extended during the observed time. It is therefore concluded that this cement does not lose its antibacterial effect after setting.

Key words: Endodontic cement, Antimicrobial effect, Anaerobic.

INTRODUCCIÓN

Este estudio es el primero que se realiza sobre el efecto antimicrobiano de la "Pasta Proquident", un cemento sellador de conductos con base en óxido de zinc-eugenol muy utilizado en el medio local. El efecto antimicrobiano es uno de los requisitos que debe tener un cemento endodóntico, porque es difícil lograr la completa remoción de los microorganismos del conducto radicular, dada su compleja anatomía, especialmente cuando se está en presencia de necrosis pulpar con o sin periodontitis apical.^{1,2}

Se ha encontrado que las bacterias dominantes en los conductos infectados son anaerobias estrictas que podrían llegar a constituir hasta un 90% de la flora;³ por esta razón, y por su alta patogenicidad, se decidió realizar este estudio sobre tales bacterias.

Muchos estudios han reportado que las especies *Porphyromona* y *Prevotella* (bacilos gram negativos anaerobios estrictos) son productoras de endotoxinas y por lo tanto inductoras de inflamación y dolor.^{4,5,6} Además, producen enzimas colagenolíticas y fibrinolíticas, y pueden

*Investigación para optar al título de Especialista en Endodoncia, CES, 1996.

¹Odontóloga CES, 1995; ²Odontólogo CES, 1990.

Asesores: *Diego Tobón Calle*, Especialista en Endodoncia, Profesor CES; *Gloria Isabel Mejía*, Bacterióloga.

resistir la fagocitosis por medio de la encapsulación.⁷ Estas bacterias, junto con el *Fusobacterium nucleatum* (bacilo gram negativo anaerobio estricto) y el *Peptostreptococcus micros* (coco gram positivo anaerobio estricto), constituyen la principal proporción de la flora en la región apical de un conducto necrótico³.

La "Pasta Proquident" esta constituida por un polvo (óxido de zinc, sulfato de bario y triyodometano o yodoformo) y por un líquido (eugenol). No fue posible obtener el porcentaje de cada componente con la casa fabricante. Su principal ventaja es el contenido de yodo, al que se le atribuye acción antimicrobiana, pero que, a su vez, tiene efecto pigmentante.^{1,8} Se sabe que el eugenol es bactericida a concentraciones relativamente altas, que tiene propiedades anestésicas a bajas concentraciones, que causa vasodilatación y que en caso de sobreobturacion resulta tóxico para las bacterias y las células del huésped. Por las propiedades de los componentes anteriormente citados, se planteó la hipótesis de que la "Pasta Proquident" tiene efecto antimicrobiano sobre las bacterias anaerobias.

El objetivo de este estudio fue el de determinar el efecto antimicrobiano de dicha pasta sobre los microorganismos anaerobios comunes en conductos necróticos, por medio de dos métodos: difusión en agar y dilución en medio líquido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el método de difusión en agar y dilución en caldo se utilizaron las siguientes cepas:

- Cepas estándar de la American Type Culture Collection (ATCC):
 - Peptostreptococcus micros*, referencia 33270
 - Prevotella intermedia*, referencia 15032
 - Porphyromona endodontalis*, referencia 35406
 - Fusobacterium nucleatum*, referencia 10953
 - Cepas de conductos necróticos obtenidas en la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB) de Medellín:
 - Fusobacterium nucleatum* (un aislamiento)
 - Prevotella intermedia* (dos aislamientos)
 - Cepas aisladas de bolsa periodontal recolectadas en la CIB:
 - Porphyromona gingivalis* (dos aislamientos)
 - Prevotella oralis* (un aislamiento)
- Se cultivaron en campana de anaerobiosis para realizar luego las pruebas con el cemento.

Método de dilución

Se hicieron seis diluciones seriadas del cemento para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM), que es la menor cantidad de cemento capaz de ejercer un efecto antimicrobiano¹⁰. Se llevaron las diferentes diluciones a tubos de ensayo con 5 ml de tioglicolato suplementado con vitamina K y hemina. Hubo un grupo control con la bacteria y sin cemento. A los 30 minutos se inocularon las cepas a una concentración de 10⁶ bacterias. Las lecturas se realizaron a los dos, cuatro y seis días. Se determinó la concentración bactericida mínima (CBM) para saber si el cemento tiene efecto bactericida o bacterios-

tático. Finalmente se obtuvo el promedio de la CIM de la "Pasta Proquident" sobre los microorganismos estudiados.

Método de difusión

Se impregnaron discos de papel de filtro estériles de 6 mm con el cemento preparado, se colocaron sobre la superficie del agar-brucella sembrado con la bacteria determinada y se incubaron en anaerobiosis durante tres, seis y nueve días a 37 °C. Se midió la zona de inhibición del crecimiento bacteriano desde el borde externo del disco hasta el límite externo de la zona de inhibición.¹¹ Cada plato de agar sirvió a su vez como experimental y como control.

Se realizaron dos experimentos con cada cepa, se promediaron y se sacó el promedio total del halo de inhibición de crecimiento de todas las cepas estudiadas.

Se realizó, además, un análisis de correlación para explorar la relación entre los dos métodos.

RESULTADOS

Método de dilución

En la Tabla 1 se incluyen los resultados de la CIM para cada bacteria, y el promedio. En la mayoría de los casos la CIM se observó en la primera lectura a los dos días.

Tabla 1. Concentración inhibitoria mínima (CIM)

Bacteria	CIM (g/ml)
<i>P. intermedia</i> ATCC	0,02878
<i>P. micros</i> ATCC	0,01439
<i>F. nucleatum</i> ATCC	0,007195
<i>P. endodontalis</i> ATCC	0,007195
<i>P. intermedia</i> (aislamiento 1)	0,02878
<i>P. intermedia</i> (aislamiento 2)	0,003595
<i>P. oralis</i> (aislamiento 3)	0,02878
<i>F. nucleatum</i> (aislamiento 4)	0,01439
<i>P. gingivalis</i> (aislamiento 5)	0,007195
<i>P. gingivalis</i> (aislamiento 6)	0,02878
Promedio	0,016908

Se hicieron repiques en agar de las diluciones que no presentaban crecimiento para ver si había inhibición o muerte bacteriana. No hubo crecimiento, lo que indica que la "Pasta Proquident" es bactericida sobre los microorganismos estudiados.

Método de difusión en agar

Los halos de inhibición del crecimiento bacteriano se muestran en el Gráfico 1. Hubo inhibición del crecimiento en todos los casos estudiados, y no se observó diferencia en el tamaño del halo a los tres, seis y nueve días con ninguna de las cepas.

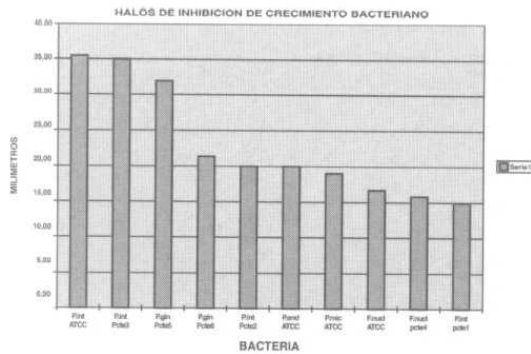
Los resultados del análisis de correlación indicaron que no hubo ninguna entre los dos métodos (Gráfico 2).

DISCUSIÓN

Este es un estudio de tipo descriptivo que puede servir como referencia para futuras investigaciones.

Los dos métodos demostraron que la "Pasta Proquident" tiene efecto bactericida a largo plazo sobre los

Gráfico 1



microorganismos anaerobios estudiados, porque la inhibición del crecimiento se mantuvo durante el tiempo de observación.

Las ventajas y desventajas de cada método se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Ventajas y desventajas de cada método

Método	Ventajas	Desventajas
Difusión	- Técnica fácil - No cambia propiedades químicas del cemento	- Influenciado por el factor de difusión en agar
Dilución	- No es influenciado por el factor de difusión en agar - Técnica cuantitativa	- Algunos cementos no se disuelven homogéneamente - Técnica difícil - Puede cambiar algunas propiedades del cemento

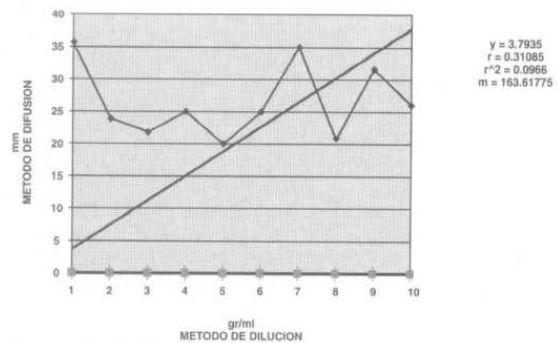
La CIM promedio en este estudio, sobre 10^6 bacterias, fue 0,016908 g/ml; se especula que es la cantidad de cemento que permanece en un conducto después de obturado. Sundqvist¹² reportó que el número de bacterias recuperadas de un conducto varía de 10^2 a 10^8 .

La diferencia encontrada en la CIM para los diferentes microorganismos pudo deberse a que hay unas cepas más resistentes que otras. Las cepas ATCC no han estado en contacto con antibióticos mientras que las de los pacientes pudieron estarlo; además, sería necesario hacer ensayos repetitivos con un número representativo de bacterias para poder sacar conclusiones.

La falta de correlación entre los dos métodos pudo haberse debido a que la muestra fue muy pequeña y a que se utilizaron diferentes géneros y especies de bacterias que se comportan de manera distinta. Estadísticamente no hubo correlación, pero microbiológicamente sí se observó correlación de sensibilidad, o sea que las bacterias fueron inhibidas en ambos métodos.

Para explicar la actividad antibacteriana de la "Pasta Proquident" se asume que ella libera sustancias que interfieren con el metabolismo y crecimiento bacterianos. Los estudios de Haraap¹³ y de Saxton¹⁴ reportaron la actividad antibacteriana del zinc. Markowitz⁹ demostró que

Gráfico 2
ANÁLISIS DE CORRELACION



la pasta de óxido de zinc-eugenol colocada en contacto directo con el tejido periapical sano o inflamado, produce una interfase húmeda entre la pasta y el tejido, que permite la liberación de grandes cantidades de eugenol en el periápice durante un corto período, ejerciendo así su acción bactericida y a la vez citotóxica. Otros autores^{15,16} han reportado también la actividad antibacteriana del eugenol. El yodoformo es bien conocido por sus propiedades antisépticas y antimicrobianas, razón por la cual se ha empleado como componente de algunas pastas de uso endodóntico.^{8,17,18,19,20}

Pumarola,¹⁰ en un estudio referente a la actividad antimicrobiana de varios cementos selladores de conducto sobre el *Stafilococcus aureus*, utilizando el método de difusión en agar, encontró los siguientes promedios de los halos de inhibición del crecimiento producidos por las sustancias de su experimento: Endometasona, 33.6 mm; N2, 22.06 mm; AH26, 18.5 mm; Diaket-A, 16.9 mm; Tubliseal 10.72 mm, y Sealapex, 9.5 mm. En el presente estudio se encontró que la "Pasta Proquident" produjo un promedio de 26.5 mm, lo que indicaría que es superior a todos los otros cementos, con excepción de la Endometasona, teniendo en cuenta que las cepas anaerobias utilizadas en este estudio son más virulentas en conducto que las aerobias, lo que podría sugerir que la "Pasta Proquident" tiene un mayor efecto sobre el *Stafilococcus aureus*. En el mismo estudio de Pumarola, las concentraciones inhibitorias mínimas obtenidas con el método de dilución fueron: Diaket, 1×10^{-4} g/ml; Endometasona y N2, 1×10^{-3} g/ml; Sealapex, 2×10^{-3} g/ml y Tubliseal y AH26, 1×10^{-1} g/ml. En el presente estudio la CIM promedio fue 1.6×10^{-2} g/ml, un valor intermedio entre los anteriores. Se debe tener en cuenta que el método utilizado por Pumarola fue el de dilución en agar y no en medio líquido como el empleado en este estudio.

Grossman²¹ analizó las propiedades antimicrobianas de los cementos plásticos y con base en ZOE, utilizando el método de difusión en agar sobre el *Bacilo subtilis* y encontró que el promedio de la zona de inhibición era: AH26, 14.2 mm; Diaket, 13.6 mm; Kerr, 13.4 mm; Mynol, 16.8 mm; N2, 29.5 mm; ProcoSol, 13.4 mm; Roth 811, 13.3 mm; RC2B, 29.5 mm; Tubliseal, 13.5 mm y ZOE, 12.6 mm. Cuando se le adicionó 6.5% de parafor-

maldehido al ZOE el halo de inhibición aumentó a 30.9 mm. Comparando los resultados de los cementos con base en ZOE (Kerr, ProcoSol, Mynol, Roth 811, Tubliscal y ZOE) con la "Pasta Proquident", se observa que ésta produce un mayor halo de inhibición del crecimiento bacteriano, lo cual podría explicarse por la presencia de yodoformo entre sus componentes. La diferencia en los resultados de estos dos estudios puede deberse a la metodología empleada, pues Grossman utilizó bacterias aerobias y el método de difusión en agar con pozuelos.

El comportamiento *in vitro* de un cemento sellador de conductos no representa con exactitud las condiciones que se tienen *in vivo*. Teniendo en cuenta el sinergismo bacteriano que ocurre en el medio selectivo del conducto, las condiciones que se presentan *in vitro* son muy diferentes a las que existen *in vivo*. Orstavik²² y Gilbert y col.²³ observaron que el suero y la saliva disminuían significativamente el efecto antibacteriano de los cementos. Es lógico predecir que esto pueda ocurrir *in vivo*. El tejido periapical disminuiría el efecto inhibitorio de los cementos en el crecimiento bacteriano. Esta es una de las razones por la que es muy importante secar los conductos cuidadosamente antes de la obturación.

Con el paso del tiempo todos los cementos pierden su efecto antimicrobiano a mayor o menor velocidad, dependiendo de sus constituyentes; en este estudio el efecto inhibitorio permaneció igual durante el tiempo observado.

CONCLUSIONES

La "Pasta Proquident" tiene efecto bactericida sobre los microorganismos anaerobios estudiados.

Por los resultados obtenidos en la búsqueda de la CBM y la no variación del halo inhibitorio en el método de difusión durante el período observado (nueve días) se concluye que el efecto del cemento es prolongado.

Agradecimientos: A los asesores del trabajo y a la empresa Proquident.

BIBLIOGRAFÍA

1. Grossman L. Physical properties of root canal cements. J Endod 1976; 2: 166.
2. Canalda C, Pumarola J. Bacterial growth inhibition produced by

- root canal sealer cements with a calcium hydroxide base. Oral Surg 1989; 68: 99-102.
3. Slots J, Taubman MA. Microbiology of endodontic infections. St. Louis: Mosby Year Book 1992: chapters 19, 20 and 24.
4. Schein B, Schilder H. Endotoxin content in endodontically involved teeth. J Endod 1975; 1:19-21.
5. Dahlen G, Bergenholtz G. Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. J Dent Res 1980; 59:1033-40.
6. Dwyer TG, Torabinejad M. Radiographic and histologic evaluation of the effect of endotoxin on the periapical tissues of the cat. J Endod 1981; 7: 31-35.
7. Griffie MB, Patterson SS, Miller CH. The relationship of Bacteroides melanogenicus to symptoms associated with pulpal necrosis. Oral Surg 1980; 50: 457-61.
8. Santander F. El odontólogo general y la endodoncia, pasta FS. Cali: Ed. Flavio Santander, 1988.
9. Markowitz K, Moynihan M, Liu M, Kim S. Biologic properties of eugenol and zinc oxide-eugenol. Oral Surg 1992; 73: 729-37.
10. Pumarola J, Berastegui E, Brau E, Canalda C, Jimenez de AM. Antimicrobial activity of seven root canal sealers. Oral Surg 1992; 74: 216-20.
11. Broisman H, Houte J, Krakow A. Antimicrobial effects on N2 in vitro. Oral Surg 1978; 45: 116-22.
12. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. J Endod 1992; 18: 427-30.
13. Haraap GJ, Saxton CA, Best JS. Inhibition of plaque growth by zinc salt. J Period Res 1983; 18: 634-42.
14. Saxton CA, Haraap GJ, Lloyd AM. The effect of dentrifices containing zinc citrate on plaque growth and oral zinc levels. J Clin Periodontol 1986; 13: 301-06.
15. Meeker HG, Linke HAB. The antibacterial action of eugenol, thyme oil and related essential oils used in dentistry. Compend Contin Educ Dent 1988; 9: 32-41.
16. Hume WR. The pharmacological and toxicological properties of zinc oxide-eugenol. J Am Dent Ass 1986; 113: 789-91.
17. Leonardo MR, Leal JM. Endodoncia, tratamiento de los conductos radiculares. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1994.
18. Iodine Pharmaceuticals, Chilean Iodine Educational Bureau. London, 1972.
19. Current Drug Hand Book, 1976
20. Goldberg F. Materiales y técnicas de obturación endodóntica. Buenos Aires: Editorial Mundí, 1982: capítulo 4.
21. Grossman L. Antimicrobial effect of root canal cements. J Endod 1980; 6: 594-97.
22. Orstavik D. Antibacterial properties of root canal sealers, cements and pastes. Int Endodontic J 1981; 14: 125-33.
23. Gilbert DB, Germaine GR, Jensen JR. Inactivation by saliva and serum of the antimicrobial activity of some commonly used root canal sealer cements. J Endod 1978; 4: 100-105.