

M. E. MARIANA
VELAZCO
HERNÁNDEZ

EFFECTO BACTERICIDA DE TRES CEMENTOS SELLADORES
ENDODÓNTICOS SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.
ESTUDIO *IN VITRO*.

2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE MEDICINA

**EFFECTO BACTERICIDA DE TRES CEMENTOS SELLADORES
ENDODÓNTICOS SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.
ESTUDIO *IN VITRO*.**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER
EL GRADO DE LA

ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

PRESENTA

M. E. MARIANA VELAZCO HERNÁNDEZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QTO.
JUNIO 2016



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad en Endodoncia

**EFFECTO BACTERICIDA DE TRES CEMENTOS SELLADORES
ENDODÓNTICOS SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.
ESTUDIO *IN VITRO*.**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de la
Especialidad en Endodoncia.

Presenta:

M. E. Mariana Velazco Hernández

Dirigido por:

E. E. M. O. Santiago Andaracua García

SINODALES

C. D. E. E. Santiago Andaracua García
Presidente

C. D. E. E. Rosario Briones Villela
Secretario

C. D. E. E. Cesar López Cruz
Vocal

C. D. E. E. Ariatna Vazquez Aguilar
Suplente

C. D. E. E. Luciano Tinajero Bueno
Suplente

Dr. Javier Avila Morales

Director de la Facultad

Santiago Andaracua G.

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Directora de Investigación y Posgrados

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Junio 2016
México

RESUMEN

Los cementos selladores endodónticos se utilizan para rellenar las irregularidades del sistema de conductos así como para mejorar la capacidad de sellado de los materiales de obturación radicular. Algunos cementos poseen efecto antibacteriano y pueden eliminar los microorganismos persistentes en istmos e irregularidades del sistema de conductos, después de una limpieza completa. *Enterococcus faecalis* ha sido aislado con frecuencia en tratamiento de conductos fallidos, debido a su capacidad para sobrevivir a los efectos de la terapia endodóntica. En los últimos años se ha producido una mejora en las propiedades antibacterianas de los cementos selladores, por lo que se deben analizar de tal manera que se contemplen sus beneficios para aumentar el éxito del tratamiento de conductos. **Objetivo:** Conocer el grado del efecto bactericida de tres cementos selladores sobre *Enterococcus faecalis*. **Metodología:** Se realizó un estudio observacional comparativo transversal, empleando el método de difusión en agar, inoculando *Enterococcus faecalis* en 15 cajas Petri con agar Mueller - Hinton. Se colocaron discos empapados con los cementos selladores a estudiar a base de Hidróxido de Calcio (Sealapex), Óxido de Zinc Eugenol (Silco) y de MTA (MTA Fillapex), midiendo los halos de inhibición bacteriana resultantes a 72 horas (3 días), 120 horas (5 días) y 168 horas (7 días) de incubación. **Resultados:** El cemento sellador Sealapex a base de Hidróxido de Calcio fue el único que mostró zonas de inhibición. **Conclusión:** El cemento sellador Selapex a base de Hidróxido de Calcio mostró inhibición de *Enterococcus faecalis* en la prueba de difusión en agar a comparación de los otros dos cementos evaluados, esto debido a su alto pH y a la incapacidad del *E. faecalis* de vivir en medios de pH mayores a 11.5.

Palabras clave: Cementos endodónticos, *Enterococcus faecalis*.

SUMMARY

Endodontic sealer cements are used to fill the irregularities of the root canal, and to improve the sealability of root canal obturation materials. Some cements have an antibacterial effect and they can even eliminate the persistent microorganisms at the root canal system's isthmus and irregularities, after a complete cleanse.

Enterococcus faecalis has been frequently isolated in failed root canal treatments, due to its ability to survive the effects of therapy. In the latest years, we have observed an improvement in the sealer cements' antibacterial properties, whereby they should be analyzed such that their benefits to the success in root canal treatments could be contemplated. **Objective:** To know the degree of bactericide effect in three endodontic sealer over *Enterococcus faecalis*. **Methodology:** A transversal comparative observational study was made using agar diffusion method, *Enterococcus faecalis* was inoculated in 15 Petri boxes with agar Mueller – Hinton. Discs drenched with endodontic sealer of the study, which include Calcium Hydroxide (Sealapex), Zinc Oxide Eugenol (Silco), and MTA (MTA Fillapex), were collocated in the boxes. The resulting halos of bacterial inhibition were measured at 72 hours (3 days), 120 hours (5 days) of incubation. **Results:** The endodontic sealer Sealapex based on Calcium Hydroxide showed inhibition of *Enterococcus faecalis* in the agar diffusion compared to the other two cements evaluated, due to its high pH and the inability of *E. faecalis* to live in mediums with pH higher to 11.5.

Key words: Endodontic sealers, *Enterococcus faecalis*.

DEDICATORIAS

A mis padres Federico Velazco y Ana María Elba Hernández a quienes amo profundamente, les dedico esta tesis. Sabiendo que no existe forma alguna de agradecer una vida de sacrificios, esfuerzos y amor, quiero que sientan que el objetivo alcanzado también es de ustedes y la fuerza que me ayudo a conseguirlo fue su gran apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por los sueños que se están haciendo realidad, tu supiste guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas al lograr alcanzar esta meta.

A mi Universidad Autónoma de Querétaro, por haberme permitido ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico, por darme la oportunidad de aprender y forjarme como profesional.

Agradezco a mi hermano Federico por su amor incondicional, aunque en la mayoría de las veces parece que estuviéramos en una batalla, hay momentos en los que la guerra cesa y nos unimos para lograr nuestro objetivo, gracias no solo por ayudarme en gran manera a concluir con este proyecto, sino por todos los bonitos momentos que pasamos juntos.

A mi mejor amigo Dr. Marco A. Reyes Torres por el tiempo que invirtió en mí, te agradezco por tu desinteresada ayuda, por echarme una mano cuando siempre la necesite, por aportar considerablemente en mi proyecto. Te agradezco no solo por la ayuda brindada, sino por los buenos momentos en los que convivimos.

A mis maestros y asesores de tesis Dra. María Elena Villagrán Herrera (Laboratorio de infectología), Dra. María Carlota García Gutiérrez (Laboratorio de enfermedades infecciosas y microbiología clínica), Dr. León Sánchez Fernández, Dr. Santiago Andarcua García, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su conocimiento científico, gracias por su paciencia, dedicación, por sus valiosas aportaciones y comentarios para guiarme durante todo el desarrollo de este trabajo.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme otorgado una beca para realizar mis estudios de Especialidad y su patrocinio para la realización de este proyecto de tesis.

ÍNDICE

| | |
|--|------|
| RESUMEN | i |
| SUMMARY | ii |
| DEDICATORIAS | iii |
| AGRADECIMIENTOS | iv |
| ÍNDICE | v |
| ÍNDICE DE TABLAS | vi |
| ÍNDICE DE GRÀFICAS | vii |
| ÍNDICE DE IMÁGENES | viii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 3 |
| Cementos selladores endodónticos..... | 3 |
| Flora microbiana en conductos radiculares..... | 7 |
| III. METODOLOGÍA | 12 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 12 |
| Preparación del medio de cultivo..... | 12 |
| Inoculación de las placas de agar..... | 14 |
| Aplicación de los agentes antimicrobianos a las placas inoculadas e incubación | 15 |
| Medición de diámetros de las zonas de inhibición e interpretación de los resultados | 16 |
| IV. RESULTADOS..... | 18 |
| V. DISCUSIÓN..... | 22 |
| VI. CONCLUSIÓN | 27 |
| VII. BIBLIOGRAFÍA..... | 28 |

ÍNDICE DE TABLAS

| TABLA | PÁGINA |
|--|---------------|
| 4. 1 Media de los halos de inhibición por tiempo..... | 19 |
| 4. 2 Media de los halos de inhibición de los cementos..... | 20 |

ÍNDICE DE GRÀFICAS

| GRÀFICA | PÀGINA |
|---|---------------|
| 4. 1. Media de inhibición del cemento Sealapex por caja Petri y día de estudio...19 | |
| 4. 2. Media de inhibición del cemento Selapex por caja Petry. 20 | |
| 4. 3. Media de inhibición del cemento Selapex por caja Petry 21 | |

ÍNDICE DE IMÁGENES

| IMAGEN | PÁGINA |
|--|--------|
| 3. 1 Preparación de la base de agar. | |
| a) Pesado del polvo de agar..... | 13 |
| 3. 2 Esterilización en el autoclave de los medios de cultivo. Etapa final..... | 13 |
| 3. 3 Preparación de las cajas Petri con agar Mueller – Hinton. | |
| a) Llenado uniforme de 4 mm..... | 14 |
| b) Enfriamiento y gelificación..... | 14 |
| 3. 4 Sembrado de a placas de agar con E. faecalis. | |
| a) Toma de muestra..... | 15 |
| b) Inoculación de placas..... | 15 |
| 3. 5 Aplicación de los agentes antimicrobianos a las placas inoculadas..... | 16 |
| 3. 6 Colocación de cajas Petri en incubadora..... | 16 |
| 3. 7 Examinación de placas después del periodo de incubación. | 17 |
| 4. 1 Medición de halos de inhibición bacteriana con regla milimétrica..... | 18 |

I. INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son el principal factor etiológico en enfermedades pulpares, su eliminación durante el tratamiento de conductos radiculares por medio de la instrumentación, irrigación y la medicación intra-conducto es esencial. Sin embargo, incluso después de estos procedimientos, las bacterias pueden sobrevivir en el interior del sistema de conductos radiculares (Sipert, 2005).

Los microorganismos que infectan la dentina del conducto radicular podrían presentar la capacidad de adherirse superficialmente a la pared dentinaria o penetrar profundamente en los túbulos dentinarios. Las bacterias adheridas a la superficie son más fáciles de eliminar que las que se encuentran en las profundidades de los túbulos, pero estas también pueden ser eliminadas gracias a los componentes antimicrobianos de los cementos selladores (Mohammadi, 2014). La tendencia actual es utilizar selladores que posean una buena actividad antimicrobiana para que erradiquen los microorganismos presentes y restantes, lo cual teóricamente mejoraría el resultado del tratamiento (Farmakis, 2012; Al-Shwaimi, 2011).

Hoy en día los cementos selladores endodónticos se encuentran elaborados a base de distintas fórmulas químicas donde el componente principal pueden ser a base de Hidróxido de Calcio, Óxido de Zinc Eugenol o Mineral Trióxido Agregado (MTA) (Shatiaee, 2010). El Hidróxido de Calcio se introdujo en la Endodoncia por Herman en 1920 utilizándolo con diferentes propósitos durante la terapia endodóntica, hasta llegar a estar disponible como cemento sellador debido a sus propiedades, cumpliendo en uso un cuarto de siglo y aun hoy en día continua siendo de los más populares (Desai, 2009). Los selladores a base de Óxido de Zinc Eugenol han dominado en los años 70's y 80's, con resultados muy satisfactorios ya que poseen un fuerte efecto antibacteriano (Orstavik, 2005; Camps 2004). En lo que corresponde a los cementos selladores a base de MTA, este componente se considera un material que ha sido investigado y utilizado para diferentes aplicaciones endodónticas desde 1990 (Roberts *et al.*, 2008), siendo la necesidad

de un mejor material sellador lo que condujo al desarrollo de cementos selladores de conductos radiculares a base de MTA (Morgental, 2011).

La incorporación de nuevos cementos selladores en Endodoncia debe ser comparada con los de uso común, principalmente en sus componentes antimicrobianos ya que puede convertirse en un factor esencial en la prevención del crecimiento y control de bacterias residuales en el sistema de conductos radiculares.

El *Enterococcus faecalis* presenta una alta prevalencia en infecciones endodónticas, que oscilan entre el 24% al 77% (Stuart *et al.*, 2006), presenta una adaptación favorable para adaptarse a condiciones adversas, tales como la privación de nutrientes (Kayaoglu y Ørstavik, 2004). Este microorganismo es resistente a varios irrigantes y medicamentos intraconducto utilizados en endodoncia (Zehnder y Guggenheim, 2009), por lo que se considera que la actividad antibacteriana de los cementos selladores endodónticos contra *E. faecalis* es importante en la práctica clínica.

Para evaluar la actividad antimicrobiana se emplea el método de difusión en agar, el cual es adecuado para la evaluación de la mayoría de los patógenos bacterianos incluyendo los microorganismos que se encuentran más involucrados en enfermedades pulpares, permitiendo el estudio de una gran diversidad de antimicrobianos. Al igual que otras técnicas de difusión con discos, el método está estandarizado y se basa en los fundamentos recogidos en el informe de 1972 del International Collaborative Study of Antimicrobial Susceptibility Testing.

Explicado todo esto, el objetivo general de este trabajo fue conocer el grado del efecto bactericida de tres cementos selladores endodónticos sobre *Enterococcus faecalis*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

El objetivo principal del tratamiento del sistema de conductos radiculares es prevenir y tratar la inflamación perirradicular mediante la eliminación de microorganismos presentes así como la prevención de una reinfección posterior (Takehashi *et al.*, 1965; Sundqvist, 1976). Sin embargo, se ha demostrado que después de la preparación biomecánica, las bacterias pueden permanecer en los túbulos dentinarios, grietas, istmos y ramificaciones del conducto radicular (Byström y Sundqvist, 1981; Fus, 1997). Por lo tanto la causa principal de fracasos durante el tratamiento de conductos es la persistencia de microorganismos después del tratamiento endodóntico, ya que si las bacterias son resistentes a la terapia, sobreviven dentro del conducto radicular, invadiendo continuamente el periodonto por lo que la cicatrización de la lesión periapical se ve comprometida (Hancock, 2001).

Los materiales de obturación como gutapercha, por lo general ocupan el espacio del conducto radicular, mientras que los selladores endodónticos mejoran el sellado al servir como relleno de las irregularidades y discrepancias menores entre la pared del conducto y el material de relleno (Siqueira, 2000), por lo que se consideran un componente importante durante el tratamiento ya que logran una obturación en tridimensional tres dimensiones, sellando el espacio del conducto radicular así como adherirse a los conos de gutapercha y a las paredes del conducto para evitar filtraciones, por lo que la terapia de Endodoncia actual utiliza una combinación de conos de gutapercha y cementos selladores para sellar alrededor de las puntas de gutapercha (Caicedo, 1988).

Cementos selladores endodónticos

De acuerdo con Grossman, los cementos selladores de conductos radiculares deben ser compatibles con los tejidos, tener un efecto antimicrobiano y proporcionar un sellado hermético. Así mismo, crear y mantener un sellado tridimensional de la totalidad del sistemas de conductos radiculares, deben tener

adhesividad, ser dimensionalmente estables, insolubles a los fluidos orales, así como una velocidad de fluido adecuada, donde esta última propiedad permite al material penetrar en las irregularidades, istmos y ramificaciones, que aumentan la probabilidad de obtener un sellado adecuado y podrían teóricamente eliminar microorganismos localizados en dichas áreas (Siqueira, 2000). Sundqvist y Figdor asignan tres funciones principales a los materiales usados en la obturación del conducto radicular: sellado para evitar crecimiento bacteriano proveniente de la cavidad oral; entierro de los microorganismos restantes y obturación completa a nivel microscópico para impedir que los fluidos sirvan como nutrientes para las bacterias de cualquier fuente (Orstavik, 2005). Los cementos selladores endodónticos, no debe fomentar el crecimiento microbiano, además de limitar la entrada de microorganismos procedentes de la saliva, lo que impide o por lo menos retarda la recontaminación del conducto radicular (Siqueira, 2000; Leonardo, 2001).

El uso de selladores con propiedades antibacterianas puede ser ventajoso, especialmente en situaciones clínicas de infección persistente o recurrente (Orstavik, 1988; Fus, 1997). La gran prevalencia de anaerobios facultativos y anaerobios obligados en el fracaso de tratamientos endodónticos requiere el uso de selladores con propiedades bactericidas. Hoy en día se encuentran elaborados a base de distintas fórmulas químicas, donde el componente principal puede ser resina epoxica, materiales a base de Hidróxido de Calcio, Óxido de Zinc Eugenol y a base de Mineral Trióxido Agregado (Shatiaee, 2010).

El Hidróxido de Calcio se introdujo en la Endodoncia por Herman en 1920, mientras que el primer dato del uso clínico por su capacidad de reparación pulpar fue probablemente por Rhoner en 1940, además de que en Endodoncia, se utiliza principalmente, como medicamento intraconducto en técnicas de apicoformación, y como componente principal de varios cementos selladores endodónticos. El Hidróxido de Calcio como agente de recubrimiento pulpar, Dycal (Dentsply-Caulk, Milford, DE), se hizo popular como un sellador entre algunos clínicos a finales

de 1970. Poco después, los selladores de conductos radiculares con esta composición química llegaron a estar disponibles en el mercado cumpliendo en uso casi un cuarto de siglo y hasta hoy en día continúan siendo populares.

Las dos razones más importantes para el uso de Hidróxido de Calcio como material de relleno radicular son por su capacidad de estimular a los tejidos periapicales con el fin de mantener la salud o promover la curación y en segundo lugar por sus efectos antimicrobianos. Los mecanismos de acción exactos son desconocidos, pero se han propuesto los siguientes:

1. El hidróxido de calcio es antibacteriano dependiendo de la disponibilidad de iones hidroxilo libres; tiene un pH muy alto (grupo hidroxilo) que estimula la reparación y calcificación activa, así como una respuesta degenerativa inicial seguida rápidamente por una mineralización y osificación.

2. Su pH alcalino neutraliza el ácido láctico a partir de los osteoclastos e impide la disolución de los componentes mineralizados, a su vez este pH también activa la fosfatasa alcalina que juega un papel importante en la formación de tejido duro.

3. Desnaturalizan las proteínas que se encuentran en el conducto radicular y las convierte menos tóxicas.

4. Activan el adenosil trifosfato dependiente de la reacción de calcio asociada con la formación de tejido duro.

5. Se difunden a través de los túbulos dentinarios y pueden comunicarse con el ligamento periodontal para detener la reabsorción radicular externa y acelerar la reparación (Desai, 2009).

Otro tipo de cementos selladores más comúnmente usados, son los elaborados a base de Óxido de Zinc-Eugenol, que dominaron los años 70's y 80's. Los prototipos son el cemento de Rickert (Pulp Canal Sealer), y sellador de Grossman, que tiene varios nombres comerciales, entre ellos Roth sellador y ProcoSol. Rickert añadió polvo de plata para un buen contraste ante los rayos X, mientras que Grossman utilizó sales de bismuto y bario (Orstavik, 2005).

Además de ser los cementos más usados, poseen un fuerte efecto antibacteriano (Camps, 2004), sin embargo también presentan cierta toxicidad cuando se colocan directamente en los tejidos vitales (Orstavik, 2005).

El eugenol, que es el principal constituyente del aceite de clavo de olor, es un potente agente antibacteriano y es concebible que desempeña un papel importante, es débilmente ionizado y tiene una estructura dimérica con ambos enlaces inter e intramoleculares de hidrogeno. El óxido de zinc es una base que se puede preparar en tres formas diferentes; de la oxidación del metal; por la oxidación del metal; por la descomposición directa de los minerales de zinc en el aire; o por descomposición térmica de compuestos de zinc. Mezclados entre sí, la reacción de fraguado de óxido de zinc eugenol es una reacción ácido-base clásica dando como resultado una sal más agua. El óxido de zinc además de una pequeña cantidad de agua proporciona hidróxido de zinc, que a su vez, con eugenol, da como resultado eugenolato de zinc más agua para catalizar la reacción, finalmente durante la reacción, los iones de hidrógeno fenólico son reemplazados por iones de zinc, formando eugenolato de zinc, que es un quelato débil (Camps, 2004).

El cemento original de óxido de zinc y eugenol, perfeccionado por Rickert, fue la norma para la profesión durante años, ya que se ajustaba en forma admirable a los requisitos fijados por Grossman, salvo que manchaba el tejido dentario. Grossman (1958) recomendó un cemento que no manchaba con la misma base de composición como sustituto de la fórmula de Rickert, por lo que desde entonces se ha convertido en el estándar contra el que se miden otros cementos, ya que se ajusta razonablemente a los requisitos propios de Grossman para pertenecer al grupo de cementos endodónticos, presentando en su fórmula química lo siguiente; Polvo: Óxido de zinc, resina staybelite, subcarbonato de bismuto, sulfato de bario, borato de sodio, anhidro. Líquido: Eugenol.

Todos los cementos de óxido de zinc y eugenol tienen un tiempo de manipulación prolongado, aunque fraguan con mayor rapidez en el órgano denrio

que en la loseta donde se mezcla debido a una mayor temperatura corporal y humedad. La principal virtud de tal cemento es su plasticidad y fraguado lento en ausencia de humedad, junto con un buen potencial sellador debido al pequeño cambio volumétrico al fraguar. El eugenato de zinc presenta sin embargo una pérdida continua de eugenol, esto hace que sea un material débil e inestable y contraindicando su uso en grandes volúmenes, como en obturaciones retrógradas colocadas en el ápice mediante acceso quirúrgico (Ingle, 1987).

El Mineral trióxido agregado (MTA) es un biomaterial que ha sido investigado para aplicaciones endodónticas desde principios de 1990 (Roberts *et al.*, 2008). En un principio, se propuso para el tratamiento de perforaciones radiculares y sellado en el extremo apical de la raíz. Actualmente, está siendo utilizado en tratamientos pulpares conservadores, principalmente en la reparación de reabsorciones radiculares y procedimientos de apexificación. El MTA es ampliamente aceptado por su biocompatibilidad y excelente capacidad de sellado. (Parirokh y Torabinejad 2010). Sin embargo, a pesar de las características favorables, tiene propiedades físicas que dificultan su utilización en el uso de la obturación de conductos radiculares (Roberts *et al.*, 2008). La necesidad de un material biocompatible que induzca la formación de tejido mineralizado, que presente un flujo adecuado y una fácil manipulación, condujo al desarrollo de cementos selladores de conductos radiculares a base de MTA (Morgental, 2011). MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brasil), los cuales se caracterizan por presentar excelente radiopacidad, fácil manejo y gran tiempo de trabajo, los cuales contienen MTA, resina salicilato, resina natural, óxido de bismuto, y sílice (Vitti, 2013).

Flora microbiana en conductos radiculares

Más de 300 grupos o especies de bacterias se han reconocido como habitantes normales de la cavidad oral, en los últimos años se han descrito nuevas especies, pero muchas aún no se han clasificado; al respecto, las bacterias

presentes en los conductos radiculares infectados incluyen un grupo restringido de especies en comparación con la flora de la cavidad oral. Los estudios de la flora microbiana en conductos con persistencia de lesiones apicales han revelado una flora notablemente diferente a la de los conductos necróticos sin tratamiento. Mientras que la flora de los conductos radiculares necróticos es típicamente polimicrobiana, se han encontrado proporciones aproximadamente iguales de microorganismos Gram positivos y Gram negativos, dominando los anaerobios (Hancock, 2001).

Las cepas de *Streptococcus* son de los primeros colonizadores de las superficies de los órganos dentarios y parecen proporcionar características importantes para la posterior unión de microorganismos Gram positivos y Gram negativos, finalmente la tercera etapa implica la multiplicación que se traducirá en una comunidad microbiana mixta organizada.

La vitalidad de los microorganismos varía a lo largo de la biopelícula con las bacterias más viables revistiendo los conductos; una estructura expuesta al medio bucal tiene implicaciones para la penetración y distribución de nutrientes así como productos finales metabólicos dentro del biofilm. Los beneficios para una bacteria al desarrollarse en una comunidad o biofilm, es que las bacterias que conviven juntas y son capaces de degradar grandes complejos moleculares de nutrientes que no podrían ser degradados por una bacteria individual. Las glicoproteínas y proteínas suministradas por la saliva o del surco gingival son la principal fuente de nutrientes para las comunidades de microorganismos del biofilm dental, el desglose de estos nutrientes requiere acción secuencial de una gama de proteasas, peptidasas y glicosidasas. Algunas especies bacterianas orales poseen cierta restricción a estas enzimas extracelulares y en consecuencia crecen en forma desorganizada con la presencia de nutrientes complejos; en contraste, las biomasas mayores se pueden formar cuando grupos de bacterias orales con perfiles de cooperación degradan macromoléculas, estas condiciones de nutrientes es probable que prevalezcan en los conductos radiculares infectados

en pulpas no vitales y ser atemperada por las variaciones en las corrientes nutricionales, sin embargo esto sigue siendo investigado. Esto explicaría por qué la población del biofilm en tratamientos de endodoncia sobrevive por períodos prolongados de hambre y se recuperan rápidamente después de un acceso a un mayor suministro nutricional, así mismo, se ha demostrado que ciertas especies bacterianas son más virulentas cuando crecen en biofilms y lo más importante, las bacterias dentro de los biofilms tienen una mayor resistencia a los antimicrobianos.

En lo que se refiere a las infecciones endodónticas después de la instrumentación en una infección primaria se puede causar una lesión del tejido periapical por un exceso de instrumentación liberando la entrada de exudados inflamatorios en el conducto y causar el crecimiento de bacterias que han sobrevivido al procedimiento de Endodoncia. Del mismo modo, un exceso de instrumentación en un re-tratamiento puede romper las condiciones de hambre que a menudo existen para las bacterias que quedaron atrapadas por el material de obturación.

La primera identificación de las estructuras de biopelícula en conductos radiculares infectados se llevó a cabo por Nair (1987); el cual junto Molven et al., (1991) observaron mediante microscopio electrónico de barrido (SEM) muestras de fragmentos apicales de 2 mm de conductos radiculares infectados con cocos y bacilos y / o filamentos que forman a menudo micro-colonias en esta zona en que las espiroquetas se entremezclan.

Enterococcus faecalis es capaz de formar un biofilm en las paredes del conducto, al respecto, se sugiere que la formación de biofilm puede ser un mecanismo que permite a este organismo resistir la desinfección biomecánica durante el tratamiento de conductos (Svensater, 2004). Hay muchos factores que pueden influir en el crecimiento y colonización de bacterias en los conductos radiculares, como la disponibilidad de los nutrientes, la baja disponibilidad de oxígeno en los conductos radiculares con pulpas necróticas, y las interacciones

bacterianas por lo que se consideran importantes determinantes ecológicos. Existen condiciones en el conducto de la raíz que permiten el crecimiento de bacterias anaeróbicas capaces de la fermentación de aminoácidos y péptidos, mientras que las bacterias que obtienen energía principalmente por la fermentación de hidratos de carbono puede ser mínimas por la falta de nutrientes disponibles por lo que el tejido pulpar desintegrado y los líquidos tisulares constituyen fuentes esenciales de nutrientes.

El tratamiento de endodoncia interfiere dramáticamente con este sistema. La anaerobiosis se rompe cuando el conducto radicular es abierto y preparado biomecánicamente para eliminar las bacterias interfiriendo con las interacciones bacterianas, posteriormente el conducto es sellado y la anaerobiosis se restaura causando un nuevo crecimiento de bacterias. Se ha demostrado que las bacterias anaerobias que han sobrevivido al tratamiento endodóntico pueden multiplicarse en grandes cantidades en el interior del conducto, por lo que se considera que lo ideal es que sea completamente limpiado durante el tratamiento debido a que las bacterias son particularmente vulnerables por una alteración en su ecología. De lo contrario, algunas bacterias tales como *Enterococcus faecalis*, son más resistentes al tratamiento, constituyendo un pequeño porcentaje de la flora de la infección original, viéndose favorecidas por el cambio de la ecología en el conducto radicular estimulando infecciones que son difíciles de tratar (Sundqvist, 1992).

En los seres humanos el *Enterococcus faecalis* habita en el tracto gastrointestinal y genitourinario, se considera una de las bacterias más aisladas del tracto gastrointestinal en aproximadamente 80% a 90%, siendo resistentes a la mayoría de los antibióticos. En la profesión médica se están convirtiendo cada vez en una de las bacterias patógenas más importante nosocomial debido a que la adquisición de resistencia hace casi imposible su control con antibióticos, siendo cada vez más evidente en la literatura dental ya que a menudo es difícil su control en los tratamientos dentales que se utilizan actualmente (Hancock, 2001).

El *Enterococcus faecalis* se ha aislado con mucha frecuencia en infección de conductos radiculares, donde se ha identificado que posee varios factores de virulencia que contribuyen a su capacidad para sobrevivir a los efectos de la terapia de conductos radiculares (Sundqvist, 1992). Es probable que el aumento significativo de contaminación por esta bacteria en casos de retratamiento se deba a que se contamina el conducto durante el tratamiento debido a una inadecuada técnica de asepsia entre citas o un sellado temporal deficiente entre citas (Hancock, 2001).

Además, este microorganismo Gram positivo anaerobio facultativo es capaz de invadir los túbulos de dentina y unirse al colágeno, por lo que se ha utilizado en numerosos estudios de propiedades antibacterianas, debido a su relativa resistencia (Fus, 1997), en general es uno de los microorganismos más resistentes a la actividad antimicrobiana de cementos selladores endodónticos, por lo que se ha encontrado asociado con graves enfermedades infecciosas humanas con un aumento de morbilidad y mortalidad (Siqueira, 2000).

III. METODOLOGÍA

Se realizó un estudio comparativo transversal mediante el método de difusión en agar, el cual se considera uno de los más antiguos y aun así continúa siendo uno de los más utilizados en el ámbito microbiológico, es un método versátil con el que se pueden probar la mayoría de los patógenos bacterianos, así como todos los agentes antimicrobianos, ya que es un método reproducible y exacto (Matuschek, 2014).

Para realizar la investigación se utilizaron cultivos de *Enterococcus faecalis*, (ATCC 51299) para determinar la efectividad bactericida de tres cementos selladores endodónticos.

Enterococcus faecalis

El microorganismo estudiado fue el *Enterococcus faecalis*, bacteria Gram positiva, la cual fue aislada en infusión estéril de Cerebro-Corazón, medio de cultivo adecuado para bacterias anaerobias facultativas ya que se considera un medio rico en nutrientes, donde el cerebro de ternera y corazón vacuno son la fuente principal de macromoléculas, carbono, nitrógeno y vitaminas. La glucosa es el carbohidrato fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato disódico, contenido en la forma, otorga capacidad buffer.

Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Mueller – Hinton (Becton Dickinson de México) ya que es un medio estandarizado para examinar la actividad antimicrobiana. El agar Mueller – Hinton se preparó a partir del reactivo comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante, que consiste en pesar 38 gr de polvo de agar por 1000ml de agua tridestilada; para el estudio se preparó 500 ml, por lo que se pesaron 19gr del medio de cultivo. (Imagen 3. 1a-b).

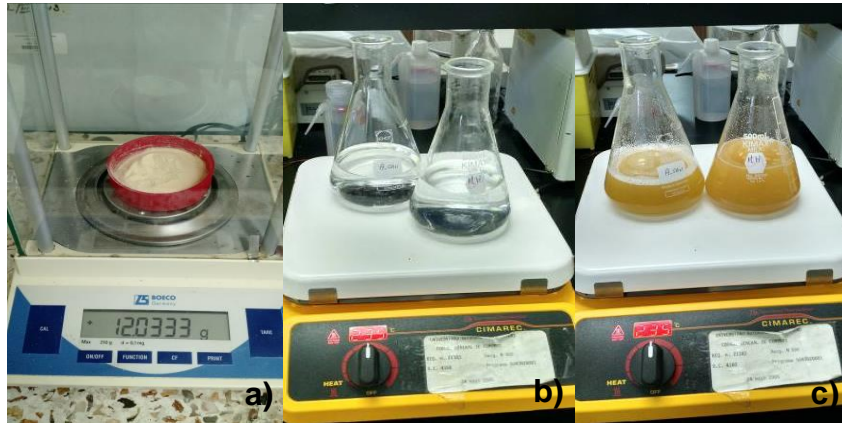


Imagen 3. 1 Preparación de la base de agar Mueller – Hinton. a) Pesado del polvo de agar Mueller – Hinton. b) Calentamiento del agua tridestilada. c) Disolución completa del polvo en una mezcla homogénea.

Se mezcló homogéneamente en un matraz mediante agitación constante sobre un agitador magnético con calentamiento (Cimarec, Thermo Scientific) hasta alcanzar la temperatura de 235°C , durante un minuto, es decir, hasta que la disolución completa del polvo (Figura 3. 1c); se selló el matraz con torundas de algodón, papel de estraza y cinta testigo. Inmediatamente se llevó al autoclave (Felisa FE-398, México, D.F.) por 15 minutos a 121°C (Imagen 3. 2), posterior a ello se dejó enfriar a $45 - 50^{\circ}\text{C}$ en la cámara de dispersión, desinfectada previamente con alcohol etílico al 96% (Golden Bell Reactivos, México).



Imagen 3. 2 Esterilización en autoclave de los medios de cultivo. Etapa final.

Se vertió el preparado tibio a placas Petri de plástico estériles desechables (SyM Laboratorios, México) de 100 x 15 mm, con fondo plano en una superficie horizontal para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, con una varianza de 0.5 mm (Imagen 3. 3a), colocando un aproximado de 20 ml en cada una de las cajas Petri.

El medio de agar se dejó enfriar a temperatura ambiente para su gelificación (Imagen 3. 3b) evitando el exceso de humedad justo antes de su uso, colocando las placas Petri entreabiertas en la cámara de flujo laminar hasta que el exceso de humedad se perdió por evaporación (usualmente 10 a 30 min). Observando una superficie húmeda, pero sin gotas de humedad en la superficie del medio o en la tapa de la placa antes de ser inoculada.

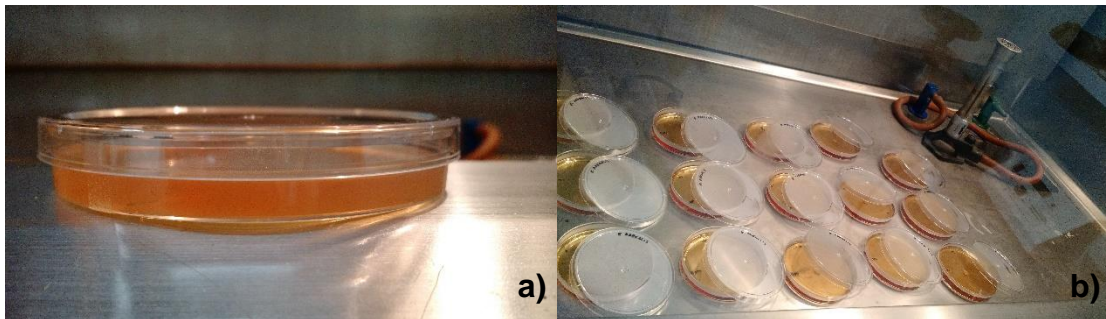


Imagen 3. 3 Preparación de las cajas Petri con agar Mueller – Hinton. a) Llenado uniforme de 4 mm. b) Enfriamiento y gelificación.

Inoculación de las placas de agar

Se tomó una muestra de *Enterococcus faecalis* contenido en un tubo de ensayo con la ayuda de un isopo estéril, el cual se sumergió en la suspensión del inocuo, siendo rotada varias veces y presionada firmemente contra la pared del tubo sobre el nivel del líquido para evitar exceso de inóculo (Imagen 3. 4a).

Se inoculó la superficie de las placas de agar Mueller -Hinton por rayado con el isopo sobre toda la superficie. Este procedimiento se repitió dos o más veces,

rotando la placa aproximadamente 60° cada vez para asegurar una distribución constante del inóculo (Imagen 3. 4b).

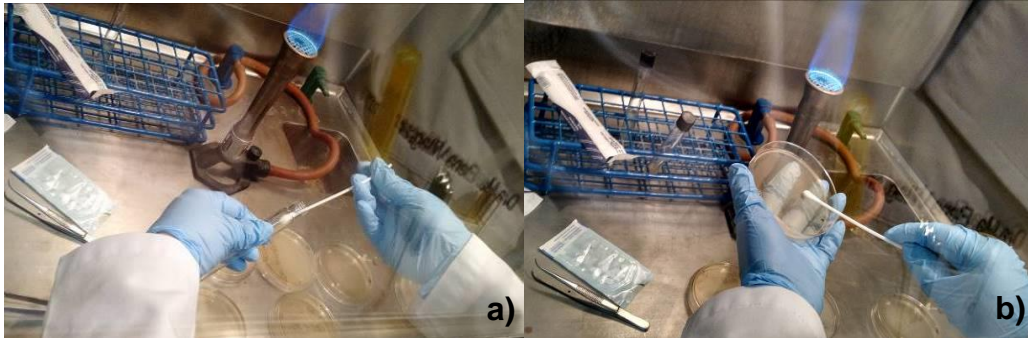


Imagen 3. 4 Sembrado de a placas de agar con *E. faecalis*. a) Toma de muestra.
b) Inoculación de placas.

Aplicación de los agentes antimicrobianos a las placas inoculadas e incubación

Se mezclaron los agentes antimicrobianos a estudiar, MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brasil), cemento sellador endodóntico a base de Mineral Trióxido Agregado; Sealapex (SybronEndo, Orange, CA) con base de Hidróxido de Calcio y Silco (Productos Endodónticos Especializados, SLP, México) a base de Óxido de Zinc Eugenol (Imagen 3. 5a) según las indicaciones del fabricante, sobre losetas de vidrio y con la ayuda de espátulas ambos esterilizados previamente.

Se realizaron discos de 6 mm de diámetro de papel filtro con ayuda de una perforadora, para ser envueltos en los agentes antimicrobianos y colocarse con pinza sobre las placas de agar ya inoculadas, teniendo cuidado de no colocarlos a menos de 24 mm de distancia uno del otro (Imagen 3. 5b) en un periodo de 15 min, ya que de lo contrario el microorganismo puede iniciar a crecer antes de la aplicación de los discos, resultando una reducción errónea en el tamaño de las zonas de inhibición o predifusión del agente antimicrobiano provocando grandes zonas de inhibición.



Imagen 3. 5 Aplicación de los agentes antimicrobianos a las placas inoculadas.

- a) Cementos selladores endodónticos de derecha a izquierda Sealapex, Silco y MTA Fillapex. b) Colocación de discos en las cajas Petri ya inoculadas.

Las placas se invirtieron y colocaron en una incubadora (Riossa E-33 Análoga, Meriequipos, México) a una temperatura que oscila entre los 34-37°C, teniendo en cuenta que pilas muy grandes y juntas proporcionan un calentamiento indeseado (Imagen 3. 6).



Imagen 3. 6 Colocación de cajas Petri en incubadora.

Medición de diámetros de las zonas de inhibición e interpretación de los resultados

Después de los periodos de incubación los cuales fueron de 72 horas (3 días), 120 horas (5 días) y 168 horas (7 días), cada placa fue examinada y se leyeron las zonas de inhibición, lo que corresponde al punto donde no hay

crecimiento obvio de la bacteria, detectándolo a simple vista, mediante la colocación de la placa a una distancia de 30 cm del ojo (Imagen 3. 7).

Las zonas de inhibición resultantes fueron medidas en milímetros empleando una regla calibrada en milímetros, las placas de agar se leyeron por la parte posterior, pasando por el centro del disco (Imagen 3. 8). Las placas Petri se colocaron sobre un fondo negro, iluminando con luz, finalmente las mediciones de las zonas de inhibición se interpretaron por medio de tablas y gráficos en el programa Excel 2013.

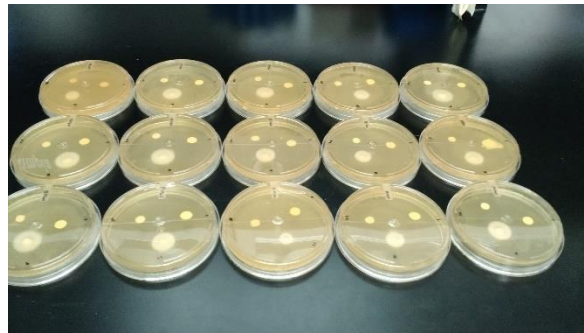


Imagen 3. 7 Examinación de placas después del periodo de incubación.

IV. RESULTADOS



Imagen 4. 1 Medición de halos de inhibición bacteriana con regla milimétrica.

Para conocer el efecto bactericida de los cementos selladores endodónticos se realizaron tres mediciones a las 72 horas, 120 horas y 168 horas donde se observó:

La primera medición de los halos de inhibición realizada a las 72 horas (tercer día) de haber colocado los discos de papel con los diferentes cementos endodónticos sobre las placas de agar previamente sembradas con *Enterococcus faecalis*, mostraron halos de acción bactericida únicamente en los discos que contenían cemento endodóntico a base de Hidróxido de Calcio, en las 15 réplicas llevadas a cabo; los halos fueron medidos mediante una regla milimétrica y cotejados los resultados mediante tablas en el programa Excel.

La efectividad bactericida mostrada por el cemento endodóntico a base de Hidróxido de Calcio reveló diversos tamaños de halos los cuales oscilaban entre los 12 mm y 25 mm, con una media de 19.26 ± 3.39 .

En la segunda medición a las 120 horas (quinto día) se pudo observar la consistencia y pocas variantes de los halos de inhibición en los discos que contenían el cemento a base de Hidróxido de Calcio, con una media de 20.06 ± 3.57 .

En la tercera medición a las 168 horas (séptimo día) no se observaron variantes de las pruebas anteriormente realizadas, con una media de 19.53 ± 3.70 . (Grafica 4. 1 y Tabla 4. 1).

Grafica 4. 1 Media de inhibición de cemento Sealapex por caja Petri y día de estudio.

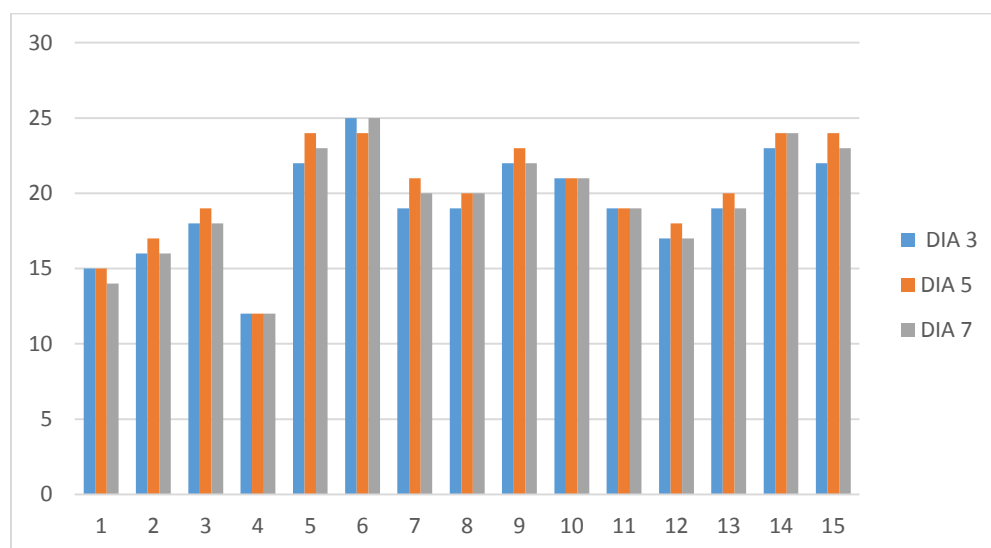


Tabla 4. 1 Media de los halos de inhibición por tiempo

| CEMENTO | 72 horas $\bar{X} \pm D.E.$ | 120 horas $\bar{X} \pm D.E.$ | 168 horas $\bar{X} \pm D.E.$ | P |
|----------------|---------------------------------------|--|--|----------|
| SILCO | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | > 0.05 |
| SEALAPEX | 19.26 ± 3.39 | 20.06 ± 3.57 | 19.53 ± 3.70 | > 0.05 |
| MTA FIALAPEX | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | > 0.05 |

Media reportada en milímetros; D.E.: desviación estándar

Grafica 4. 2 Media de inhibición de cemento Sealapex por caja Petri.

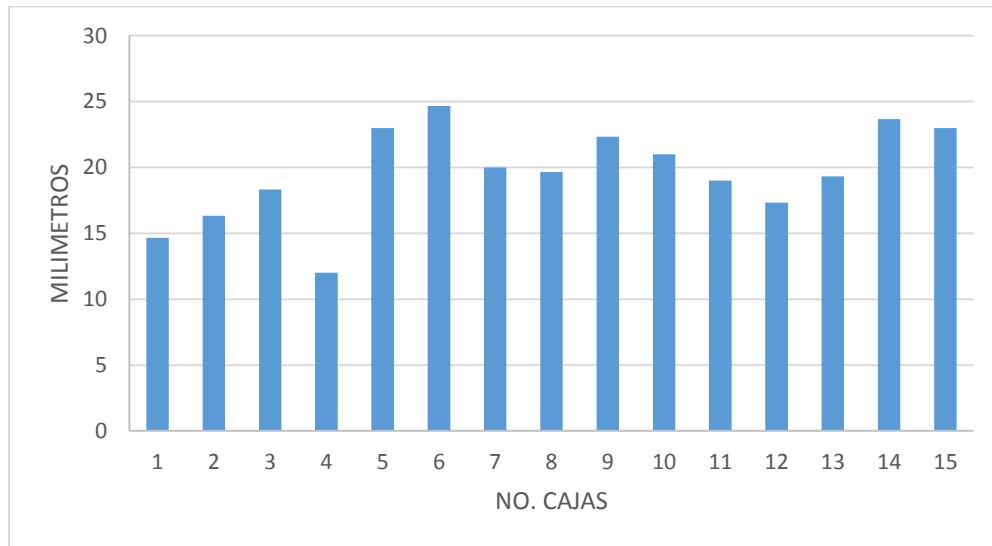


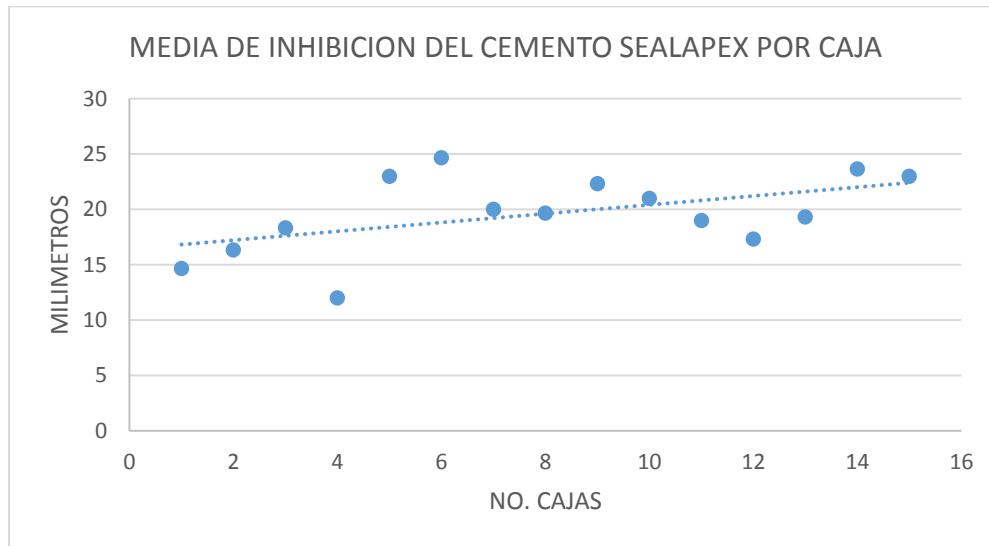
Tabla 4. 2 Media de los halos de inhibición de los cementos.

| CEMENTO | \bar{X} (mm) | D.E. |
|----------------|----------------|-------------|
| SILCO | 0 | ± 0 |
| SEALAPEX | 19.62 | ± 0.54 |
| MTA FIALAPEX | 0 | ± 0 |

$P < 0.05$; mm: milímetros; D.E.: desviación estándar

Se observó que el cemento a base de Hidróxido de Calcio fue el único que presento halos de inhibición, el promedio final de inhibición fue de 19.62 ± 0.54 mm (Tabla 4. 2).

Grafica 4. 3 Media de inhibición de cemento Sealapex por caja Petri.



En las gráficas 4. 2 y 4. 3 se muestra la media de inhibición del cemento sellador endodóntico Sealapex por caja Petri, mostrando ligeras varianzas en el tamaño del halo de inhibición.

Cabe mencionar que los discos que contenían cementos a base de Óxido de Zinc y Mineral Trióxido Agregado no tuvieron ninguna acción bactericida al no presentar halos en ninguna de las cajas sembradas.

Los datos obtenidos se expresaron en valores cuantitativos y la información se procesó en el programa Excel 2013. Los resultados se expresaron como el promedio y la desviación estándar de los datos obtenidos.

V. DISCUSIÓN

Se ha comprobado que la causa principal del fracaso endodóntico es la supervivencia de algunos microorganismos en el interior del sistema de conductos radiculares, a diferencia de las infecciones endodónticas primarias que son polimicrobianas en las que dominan los bacilos anaerobios Gram negativos, los microorganismos implicados en las infecciones secundarias se componen de una o pocas especies bacterianas (Stuart, 2006), una de ellas es *Enterococcus spp.* la cual constituye una pequeña porción de la flora inicial en el conducto radicular, siendo la más encontrada en órganos dentarios con fracaso de tratamiento de conductos, además de ser la que más se asocia a infecciones persistentes (Bodrumlu, 2006).

Enterococcus faecalis posee varios factores de virulencia que contribuyen a su capacidad para sobrevivir a la terapia de conductos radiculares, es Gram-positivo anaerobio facultativo lo que le permite crecer en presencia o ausencia de oxígeno, siendo capaz de invadir los túbulos de la dentina y unirse al colágeno (Morgental, 2011). Tiene la capacidad de soportar periodos prolongados de hambre hasta que esté disponible un aporte nutricional, las células son capaces de recuperarse mediante la utilización de suero del hueso alveolar o del ligamento periodontal. Sobreviven en ambientes muy rigurosos, como en pH alcalino extremo, resiste las sales biliares, detergentes, metales pesados, etanol y la desecación. Puede crecer en intervalos de 10 a 45 °C y sobrevivir a una temperatura de 60°C durante 30 minutos. Esta especie se reconoció como un importante patógeno nosocomial causando bacteriemia, endocarditis, meningitis bacteriana y variabilidad de otras infecciones. Las fuentes de estas infecciones han sido reportadas como originarios de las manos de la atención sanitaria de trabajadores, de instrumentos clínicos o de paciente a paciente. Estudios demuestran que *E. faecalis* es capaz de trasladarse desde el conducto radicular a los ganglios linfáticos submandibulares, sugiriendo que esta vía de infección desempeña un papel importante en otras infecciones (Stuart, 2006).

La obturación del sistema de conductos radiculares utilizando un cemento sellador con propiedades antibacterianas puede ser ventajoso especialmente en situaciones clínicas de infecciones persistentes o recurrentes. Los requisitos para un cemento sellador deben ser biocompatibilidad, excelente sellado, adecuada adherencia y propiedades antimicrobianas. Rappaport (1964) hizo hincapié en el hecho de que “el cemento sellador endodóntico ideal debe ser bactericida” (Anumula, 2012). Los cementos selladores más utilizados en endodoncia son principalmente los fabricados a base de Óxido de Zinc Eugenol e Hidróxido de Calcio, así como los de reciente aparición a base de Mineral Trióxido Agregado.

El método más comúnmente utilizado *in vitro* para la evaluación de la actividad antimicrobiana de selladores de conductos radiculares recién manipulados es la prueba de difusión en agar a pesar de sus limitantes. Sus resultados son influenciados por la solubilidad y difusibilidad del material en el medio de cultivo (Morgental, 2011), esto depende de muchas variables entre ellas la carga y la concentración del antimicrobiano, la viscosidad del gel de agar, la temperatura y la concentración iónica del material probado. Otro factor importante es el tiempo, ya que tiene que ser suficiente para que el agente antimicrobiano pueda difundirse en el agar antes de que el microorganismo alcance una densidad específica (Matuschek, 2014).

Se debe tener cuidado en el volumen del agar ya que debe ser similar entre las diferentes placas pero debe ser suficiente para permitir la difusión del antimicrobiano ya que si es demasiado grande o pequeño dará lugar a falsas lecturas. Muchos investigadores han descuidado este importante punto en su metodología, para evitar esto se ha informado que el espesor óptimo del medio de agar es de 4 mm, como se realizó en este estudio para evitar lecturas falsas. Otro punto importante es el control de la temperatura, al respecto, Cooper (1952) informó que cualquier retraso en la elevación de la temperatura de las placas retardara el crecimiento de los microorganismos y producirá zonas de inhibición más grandes que en estado óptimo, sin embargo, a pesar de todos los factores y limitantes

mencionadas esta prueba se sigue utilizando. Por otro lado, los científicos han llegado con tecnología alternativa para superar estas limitantes tales como la prueba de contacto directo y penetración en los túbulos de dentina las cuales no tiene estas desventajas (Al-Shwaimi, 2011; Matuschek, 2014).

Los resultados aquí obtenidos concuerdan con los descritos por Morgental (2011) y Siper (2005) quienes realizaron pruebas antibacterianas tanto en pruebas de difusión en agar como en contacto directo, llegando a la conclusión de que el cemento sellador a base de MTA no tiene efecto antimicrobiano contra *E. faecalis*, a pesar de su alto pH. *E. faecalis* es incapaz de vivir en un pH de 11.5 o mayor, por lo tanto se asume que la alcalinidad no fue suficiente para hacer el entorno inadecuado para la supervivencia de este microorganismo (Morgental, 2011). Según Kuga en 2013, Sealapex mostró tener un pH más alto que MTA Fillapex. Esto de igual forma concuerda con lo reportado por Tanomaru en 2007. Otra explicación a la resistencia es la bomba de protones de *E. faecalis* este sea probablemente el factor clave en su resistencia a los agentes alcalinos (Stuart, 2006).

En contraste con lo reportado por Faria-Júnior (2013), en donde los cementos a base de MTA e Hidróxido de Calcio sí presentaron propiedades antimicrobianas. El cemento a base de MTA produjo zonas de inhibición de 7.32 mm en la prueba de difusión en agar, mientras que por contacto directo no mostraron alguna acción. De igual forma en el estudio de Kuga (2013), Sealapex mostro una mejor eficacia antibacteriana contra *E. faecalis* que MTA Fillapex. A pesar de que se conoce que el MTA contiene óxido de calcio y que presenta un mecanismo similar de acción que el hidróxido de calcio (Kuga, 2013). Se ha demostrado que la química de los selladores a base de Mineral Trióxido Agregado es similar a la del MTA pero con la adición de carbonato de calcio que reduce el pH de 12.5 hasta 10.0 después del tiempo de fraguado (Scarparo, 2010).

En lo que corresponde a los cementos a base de Hidróxido de Calcio son cementos con actividad antibacteriana reconocida, tanto inmediatamente después de su manipulación y tras varios días. Esto se atribuye a la capacidad de mantener un pH alto por periodos de tiempo prolongados (Faria-Júnior, 2013). En algunos estudios se ha demostrado tener pH de hasta 12.5, llegando a 11.5 después de 30 días lo cual aumenta el éxito en la eliminación de bacterias (Desai, 2009; Da Silva, 1997).

En nuestros resultados el sellador a base de Hidróxido de Calcio presentó zonas de inhibición en un promedio de 19.62 mm, la cual permaneció durante el tiempo del estudio, probablemente debido al incremento del pH, lo cual se refleja en su acción bactericida permitiendo la eliminando de bacterias restantes en el sistema de conductos. En algunos estudios concluyen que la actividad antibacteriana de estos cementos es menor especialmente al compararlos con los basados en Óxido de Zinc Eugenol, sin embargo están dentro de un rango aceptable comparándolos con otros selladores de conductos radiculares (Mohammadi, 2014).

Con respecto al cemento basado en Óxido de Zinc Eugenol muchos autores han reportado mayores zonas de inhibición con varias especies de microorganismos y utilizando distintas marcas comerciales (Saha, 2010; Stevens, 1981; Orstavik, 1981; Kaplan, 1999), esto se debe a que cuando se expone libera medios acuosos por hidrolisis del eugenolato de zinc inhibiendo la respiración celular y la división microbiana, esto incluso a bajas concentraciones. Kaplan et al., (1999) declararon que los selladores con efecto antimicrobiano más efectivo son los basados en eugenol y formaldehído. Sin embargo en este estudio no mostró zonas de inhibición en ninguna de las placas.

No está claramente entendido el verdadero mecanismo para inhibir microorganismos ya que las propiedades químicas y físicas del Óxido de Zinc pueden ser afectadas por cambios en su estructura y morfología, dadas durante el proceso de precipitación y cambios en el pH de su fabricación dando diversos

formas y tamaños en sus partículas (Amornpitoksuk, 2011). De igual forma Rad (2013) reportó que la actividad bacteriana del Óxido de Zinc disminuye con el aumento de la temperatura durante el proceso de oxidación en su fabricación, ya que la eficacia disminuye con el crecimiento del tamaño de las partículas que lo forman. Sin embargo es necesario evaluar las otras propiedades de estos materiales.

Varios estudios han investigado los efectos antimicrobianos de distintos selladores endodónticos, así como su durabilidad, con el uso de diferentes especies bacterianas y métodos, dentro de los más usados tenemos la prueba de difusión en agar, penetración en túbulos de dentina y por contacto directo (Desai, 2009). Para obtener resultados más precisos se ha sugerido utilizar más de una técnica (Al-Shwaimi, 2011), sin embargo para mejorar la evaluación de la actividad antibacteriana de selladores, nuevos métodos deben ser desarrollados donde no exista interferencia de la difusividad y solubilidad del material en los medios de cultivo (Morgental, 2011).

VI. CONCLUSIÓN

El único cemento que mostró propiedades antimicrobianas fue a base de Hidroxido de Calcio (Sealapex). El promedio de inhibición fue de 19.62 ± 0.54 mm.

La actividad bactericida de los selladores Silco y MTA Fillapex contra *Enterococcus faecalis* fue nula.

La especie más observada en fracaso endodóntico es *Enterococcus faecalis* debido su capacidad de sobrevivir a la terapia endodóntica.

La utilización de un cemento sellador con propiedades antimicrobianas podría reducir la tasa de fracaso endodontico debido a que se garantiza la eliminación de la mayor cantidad de microorganismos patógenos presentes en el interior del sistema de conductos.

La incorporación de componentes antimicrobianos en los cementos selladores puede convertirse en un factor esencial para evitar el crecimiento de bacterias residuales en los espacios del conducto.

Nuestro reto como especialistas en endodoncia es poner en práctica los métodos para eliminar eficazmente este microorganismo durante y después del tratamiento de conductos.

Se necesitan más estudios utilizando más de una técnica antimicrobiana.

Nuevos métodos deben ser desarrollados donde no exista interferencia de difusividad y solubilidad del material en los medios de cultivo.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Al-Shwaimi E. 2011. Evaluation of antimicrobial effect of root canal sealers. *Pakistan Oral & Dental Journal*. 81(2):432-5.
- Amornpitoksuk P, Suwanboon S, Sangkanu S, Sukhoom A, Wudtipan J, Srijan K, Kaewtaro S. 2011. Synthesis, photocatalytic and antibacterial activities of ZnO particles modified by diblock copolymer. *Powder technology*. 212(3):432-438.
- Anumula L, Kumar S, Kumar VS, Sekhar C, Krishna M, Pathapati RM, Venkata Sarath P, Vadaganadam Y, Manne RK, Mudlapudi S. 2012. An assessment of antibacterial activity of four endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* by direct contact test: An in vitro study. *ISRN Dent*. 2012:989781.
- Bodrumlu E, Semiz M. 2006. Antibacterial activity of a new endodontic sealer against *Enterococcus faecalis*. *J Can Dent Assoc*. 72(7):637.
- Byström A, Sundqvist G. 1981. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*. 89(4):321-8.
- Caicedo R, Von Fraunhofer JA. 1988. The properties of endodontic sealer cements. *J Endod*. 14(11):527-534.
- Camps J1, Pommel L, Bukiet F, About I. 2004. Influence of the powder/liquid ratio on the properties of zinc oxide eugenol based root canal sealers. *Dent Mater*. 20(10):915-23.
- Da Silva L, Leonardo M, Silva RD. 1997. Calcium hydroxide root canal sealers: evaluation of pH, calcium ion concentration and conductivity. *Int Endod J*. 30:205–9.
- Desai S, Chandler N. 2009. Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review. *J Endod*. 35(4):475-80.
- Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M, Berbert FL, Guerreiro-Tanomaru JM. 2013. Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. *Int Endod J*. 46(8):755-62.

- Farmakis ET, Kontakiotis EG, Tseleni-Kotsovili A, Tsatsas VG. 2012. Comparative in vitro antibacterial activity of six root canal sealers against *Enterococcus faecalis* and *Proteus vulgaris*. *J Investig Clin Dent*. 3(4):271-5.
- Fuss Z1, Weiss EI, Shalhav M. 1997. Antibacterial activity of calcium hydroxide containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. *Int Endod J*. 30(6):397-402.
- Hancock HH, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. 2001. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 91(5):579-86.
- Ingle JI, Taintor JF. 1987. Manual práctico de endodoncia, 3^o edición, Interamericana. Tomo 2. Pag 238-239.
- Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. 1965. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 20:340-9.
- Kaplan AE, Picca M, Gonzalez MI, Macchi RL, Molgatini SL. 1999. Antimicrobial effect of six endodontic sealers: An in vitro evaluation. *Endod Dent Traumatol*. 15:42-5.
- Kayaoglu G, Ørstavik D. 2004. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 15(5):308-20.
- Kuga MC, Faria G, Weckwerth PH, Duarte MAH, Campos EA, SÓ MVR, Viola KS. 2013. Evaluation of the pH, calcium release and antibacterial activity of MTA Fillapex. *Rev Odontol UNESP*. 42(5):330-335.
- Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M, Bonifácio KC, Ito IY. 2001. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. *J Endod*. 26(7):391-4.
- Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G. 2014. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect*. 20(4):O255-66.
- Mohammadi Z, Karim Soltani M, Shalavi S, Yazdizadeh M, Jafarzadeh M. 2014. Calcium hydroxide-based root canal sealers: an updated literature review. *Compend Contin Educ Dent*. 35(5):334-9.

- Molven O, Olsen I, Kerekes K. 1991. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 7(5): 226-229.
- Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PM. 2011. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *Int Endod J.* 44(12):1128-33.
- Nair PNR. 1987. Light and electron microscopic studies on root canal flora and periapical lesions. *J Endod.* 13(1): 29-39.
- Orstavik D. 1981. Antibacterial properties of root canal sealers, cements and pastes. *Int Endod J.* 14:125-33.
- Orstavik D. 1988. Antibacterial properties of endodontic materials. *Int Endod J.* 21(2):161-9.
- Orstavik D. 2005. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. *Endodontic Topics.* 12:25-38.
- Parirokh M, Torabinejad M. 2010. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod.* 36(1):16-27.
- Rad MS, Kompany A, Zak AK, Javidi M, Mortazavi SM. 2013. Microleakage and antibacterial properties of ZnO and ZnO: Ag nanopowders prepared via a sol-gel method for endodontic sealer application. *Journal of nanoparticle research.* 15(9):1-8.
- Roberts HW, Toth JM, Berzins DW, Charlton DG. 2008. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature. *Dent Mater.* 24(2):149-64.
- Roberts HW, Toth JM, Berzins DW, Charlton DG. 2008. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature. *Dent Mater.* 24(2):149-64.
- Saha S, Samadi F, Jaiswal JN, Ghoshal U. 2010. Antimicrobial activity of different endodontic sealers: an in vitro evaluation. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 28(4):251-7.

- Scarpato RK, Haddad D, Acasigua GA, Fossati AC, Fachin EV, Grecca FS. 2010. Mineral trioxide aggregate-based sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. *J Endod.* 36(7):1174-8.
- Shantiaee Y1, Dianat O, Janani A, Kolahi Ahari G. 2010. In vitro evaluation of the antibacterial activity of three root canal sealers. *Iran Endod J.* 5(1):1-5.
- Sipert CR, Hussne RP, Nishiyama CK, Torres SA. 2005. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. *Int Endod J.* 38(8):539-43.
- Siqueira JF Jr, Favieri A, Gahyva SM, Moraes SR, Lima KC, Lopes HP. 2000. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. *J Endod.* 26(5):274-7.
- Stevens RH, Grossman LI. 1981. Antimicrobial effect of root canal cements on an obligate anaerobic organism. *J Endod.* 7:266-7.
- Stuart CH, Schwartz AS, Beeson TJ, Owatz CB. 2006. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of Endodontics.* 32, 93–8.
- Sundqvist G. 1992. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 18(9):427-30.
- Sundqvist, G. 1976. Bacteriological studies of necrotic dental pulps (No. 7). Department of Oral Microbiology, University of Umeå.
- Svensater G, Bergenholtz G. 2004. Biofilms in endodontic infections. *Endodontic Topics.* 9:27-36.
- Tanomaru JM, Barros DB, Watanabe E, Ito IY. 2007. In vitro antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. *J Oral Sci.* 49(1):41-5.
- Vitti RP1, Prati C, Silva EJ, Sinhoreti MA, Zanchi CH, de Souza e Silva MG, Ogliari FA, Piva E, Gandolfi MG. 2013. Physical properties of MTA Fillapex sealer. *J Endod.* 39(7):915-8.
- Zehnder M, Guggenheim B. 2009. The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. *Int Endod J.* 42(4):277-87.