

EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE DOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS A BASE DE HIDRÓXIDO DE CALCIO AGREGADOS CON CIPROFLOXACINO Y TETRACICLINA SOBRE EL *Enterococcus faecalis*, CUSCO, 2018.

Estrada L. Cirujana Dentista.

RESUMEN:

Objetivo: determinar la efectividad antibacteriana del cemento endodóntico Apexit plus y Sealapex agregado con dos antibióticos por separado contra el *Enterococcus faecalis*, bacteria resistente y asociada directamente al fracaso endodóntico. **Materiales y Métodos:** Se utilizaron cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, las cuales fueron cultivadas reactivadas en tres medio de cultivo agar Tripticasa de Soya, agar Sangre y agar bilis esculina, también se inoculó las bacterias en caldo infusión cerebro-corazón (BHI) con cloruro de sodio al 6.5% a una temperatura de 37°C, e incubadas por 24 horas. Se dispersó 50µl de BHI a 60 placas Petri de agar Mueller Hinton. Luego se procedió hacer 5 agujeros o pozos por placa; los antibióticos fueron agregados por separado al cemento endodóntico Apexit plus y Sealapex en concentraciones de 5%, 10% y 25%, y se colocaron en los pozos de las placas Petri. Como grupo control se utilizaron cementos endodónticos sin aditivo e hidróxido de calcio en polvo con suero fisiológico. En total fueron examinados 300 halos de inhibición, los que se midieron a las 24 horas, 48 horas y 72 horas encontrando que no existen diferencias significativas entre los 3 tiempos. **Resultados:** Se demostró que de todas las combinaciones con ciprofloxacino presentan la mejor efectividad antibacteriana. Se encontró que el grupo Sealapex con tetraciclina no tiene ningún efecto antibacteriano.

Palabras Clave: Apexit Plus, Sealapex, afectividad antibacteriana, ciprofloxacino, tetraciclina y *Enterococcus faecalis*

ABSTRACT:

Objective: Determine the antibacterial effectiveness of the endodontic cement Apexit plus and Sealapex added with two antibiotics separately against *Enterococcus faecalis*, resistant bacteria and directly associated with endodontic failure. **Materials and methods:** Strains of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 were used, which were cultivated reactivated in three agar culture medium Trypticase agar, Blood agar and bile agar esculin, bacteria were also inoculated in brain-heart infusion broth (BHI) with chloride of sodium at 6.5% at a temperature of 37°C, and incubated for 24 hours. 50µl of BHI was dispersed in 60 Petri dishes of Mueller Hinton agar. Then we proceeded to make 5 holes or wells per plate. The antibiotics were added separately to the endodontic cement Apexit plus and Sealapex in concentrations of 5%, 10% and 25%, and were placed in the wells of the Petri dishes. As a control group, endodontic cements without additive and calcium hydroxide powder were used with physiological saline. In total, 300 halos of inhibition were examined, which were measured at 24 hours, 48 hours and 72 hours finding no significant differences between the 3 times. **Results:** It was demonstrated that of all the combinations with ciprofloxacin present the best antibacterial effectiveness. It was found that the group Sealapex with tetracycline has no antibacterial effect.

Keywords: Apexit Plus, Sealapex, antibacterial effectiveness, ciprofloxacin, tetracycline and *Enterococcus faecalis*.

INTRODUCCIÓN

La obturación de conductos es el último paso y fundamental en el tratamiento endodóntico. En este momento se espera que el conducto radicular este limpio y aséptico, libre de microorganismos, para poder dar un pronóstico favorable a la pieza dentaria después de concluido el tratamiento. En estudios

realizados en los últimos años se ha hallado que los conductos radiculares de las piezas dentarias diagnosticadas con necrosis pulpar y periodontitis apical están contaminados aún después de la preparación química y mecánica, medicación intraconducto y la obturación final lo que provoca fracasos endodónticos, requiriendo muchas veces que estas piezas sean retratadas. Se encontró que entre los

microorganismos causales de retratamientos se encuentra el *Enterococcus faecalis*, una de las bacterias más difíciles de eliminar por ello se agrega antibióticos a dos cementos endodónticos para eliminar esta bacteria aún después haber finalizado el tratamiento.(1,2,3)

Cementos Endodónticos a base de Hidróxido de Calcio

Los cementos que contienen hidróxido de calcio tienen el propósito de mejorar las propiedades biológicas y garantizar un buen sellado de los sistemas de conductos radiculares, ya que previenen la regeneración de las bacterias residuales, controlan la entrada de bacterias dentro del conducto y estimulan la formación de tejidos de reparación en la región periapical. (4)

El hidróxido de calcio tiene la propiedad de actuar como bacteriostático y bactericida además de modificar el pH de los tejidos periapicales que ayuda en la cicatrización. También ayuda a controlar el exudado en el periápice que es importante cuando existen lesiones periapicales, induce al cierre periapical.(5,6,7)

SEALAPEX (Sybron-Kerr):

Es un cemento pasta/pasta (base y catalizador) usados en partes iguales, manipulándose por 1 o 2 minutos hasta obtener una mezcla de color homogéneo. Su tiempo de fraguado en el conducto radicular es de 30 a 40 minutos, acelerándose en presencia de humedad.(8)

APEXIT PLUS (Ivoclar-Vivadent)

Es un cemento pasta/pasta (base y catalizador). Posee buena fluidez, amplio tiempo de trabajo entre 2 horas y media a 3 horas, tiempo de fraguado 1 hora 30 minutos. Tiene excelente estabilidad dimensional y presenta una solubilidad del 3% después de 24 horas de inmersión.(9)

Antibióticos

Los antibióticos se constituyen dentro del grupo de los antimicrobianos que son moléculas naturales (producidas por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias.(10)

Ciprofloxacino

El ciprofloxacino es un agente antimicrobiano sintético, que pertenece a la clase de las fluoroquinolonas e inhibe la síntesis de ADN bacteriano.(11,12)

Mecanismo de acción: La acción bactericida del Ciprofloxacino es resultado de la inhibición de las enzimas topoisomerasa II (ADN girasa) y topoisomerasa IV, necesarias para la replicación, transcripción, reparación y recombinación del ADN bacteriano.(13)

Concentración mínima inhibitoria: Para la dosificación del ciprofloxacino para la mezcla con cementos endodónticos Hoelscher, Bahcall y Maki en su investigación llevaron a cabo una prueba piloto para establecer la proporción de cemento-antibiótico, en la que usaron concentraciones 0% 0.1%, 0.5%, 1%, 10%, 25% y 50% de diferentes antibióticos, llegando a la conclusión que con una proporción del 10 % de la masa total del cemento no hay variaciones en cuanto a la efectividad antibacteriana.(14)

Tetraciclina

Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos de amplio espectro, estas son eficaces contra microorganismos: grampositivos y gramnegativos, aerobios y anaerobios, además son también activos contra microorganismos resistentes a los antibióticos betalactámicos.(15)

Mecanismo de acción: La tetraciclina actúan inhibiendo la síntesis proteica de las bacterias. Se fijan con gran afinidad a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, de forma que este impide la unión del sitio aminoacil del ácido ribonucleico de transferencia a la subunidad 30S ribosomal, y de tal manera que se paraliza la incorporación de aminoácidos durante la síntesis proteica.(16)

Enterococcus faecalis

Este microorganismo proviene del grupo de anaerobios facultativos. Son cocos Gram positivos que puede aparecer como células aisladas, en pares o en cadenas cortas; son anaerobios facultativos, inmóviles y no esporulados.

La capacidad de supervivencia del *Enterococcus faecalis* a condiciones adversas tales como: las temperaturas extremas bajas, cantidad de nutrientes, la resistencia a procedimientos de desinfección dentro del conducto, altas concentraciones de sales, resistencia al Hidróxido de calcio usado como medicación intraconducto, la habilidad de penetrar los túbulos dentinarios hasta zonas muy profundas, todas estas condiciones son de gran ayuda para el *Enterococcus faecalis* porque le permite sobrevivir a procedimientos mecánicos como la instrumentación y químicos como los irrigantes y la medicación intraconducto.(1,17)

Objetivo

El objetivo fue determinar la efectividad antibacteriana in vitro de dos cementos endodónticos Sealapex y Apexit Plus a base de hidróxido de calcio agregados con ciprofloxacino y tetraciclina al 5%, 10% y 25% sobre el *Enterococcus faecalis*.

Materiales y métodos

La investigación fue de tipo experimental, de corte longitudinal, tiempo prospectivo, su diseño fue experimental puro y de alcance explicativo.

Se tuvo las siguientes variables:

Variable independiente: Cementos de hidróxido de calcio agregados con ciprofloxacino y tetraciclina (al 5%, 10% y 25%)

Variable dependiente: Efectividad antibacteriana sobre el *Enterococcus faecalis*

Co-variable: Tiempo

La realización de la parte experimental de la investigación de la efectividad antibacteriana de los dos cementos a base de hidróxido de calcio agregados con ciprofloxacino y tetraciclina sobre la cepa *Enterococcus faecalis*, se llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencias Básicas de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Andina del Cusco, usando el método modificado de pozos de agar. La cepa pura de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue obtenida del laboratorio GenLab.

En la parte experimental se comenzó con la prueba de calidad de los cementos endodónticos Sealapex y Apexit Plus. Seguidamente se prosiguió con la preparación de los medios de cultivo, después se realizó la reactivación de la cepa, para continuar con la prueba piloto.

La prueba final fue realizada con muestras de cepas de *Enterococcus faecalis* inoculadas en 60 placas Petri de agar Mueller Hinton con 5 pozos de 5 mm de diámetro, 3 pozos de cemento con concentraciones de antibiótico al 5%, 10% y 25%, y 2 pozos de controles positivo y negativo. Primero se procedió a preparar los antibióticos, a las tabletas de ciprofloxacino de 500mg se les retiró la cubierta y se pulverizaron en un mortero estéril y se vació el contenido en un frasco de vidrio oscuro, en caso de la tetraciclina se pulverizó y se vació el contenido en un frasco de vidrio oscuro. Seguidamente se rotularon las 60 placas Petri, luego se colocó el inóculo contenido en tubos de ensayo de caldo BHI con *Enterococcus faecalis* encima del agar y se diseminó con una espátula Digrafsky sobre toda la superficie. Después se realizaron pozos de agar de 5 mm de diámetro y se pesaron los cementos sobre hojas de block de papel previamente taradas en una balanza

analítica, se anotó el peso y mediante una regla de tres simple se calculó el 5%, 10% y 25% de antibiótico. Se mezclaron los cementos con los antibióticos y se vaciaron a los pozos, hasta llenarlos a la altura del agar, al igual que los controles positivo (cemento sin antibiótico) y control negativo (hidróxido de calcio con suero fisiológico). Se sellaron las placas Petri con parafina y se llevaron a la incubadora, se anotaron los resultados en una ficha de recolección de datos a las 24 horas, 48 horas y 72 horas.



Figura N° 1 Halos de inhibición de Apexit Plus con ciprofloxacino

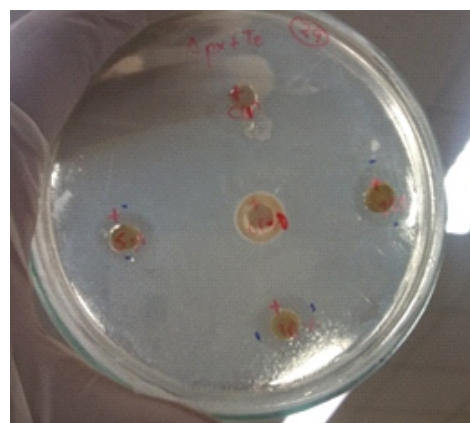


Figura N° 2 Halos de inhibición de Apexit Plus con tetraciclina

Estadísticos	Halo de inhibición en mm			
	A	B	C	D
N	15	15	15	15
Media	33,13	10,00	35,93	,00
Desviación estándar	1,508	1,254	,981	,000
Mínimo	30	8	34	0
Máximo	36	12	38	0
Cuartil	1	32,00	9,00	35,00
	2	34,00	10,00	36,00
	3	34,00	11,00	36,00

A: Apexit Plus+ Ciprofloxacino B: Apexit Plus+Tetraciclina
C: Sealapex+ Ciprofloxacino D: Sealapex+Tetraciclina

Tabla N° 1 Estadísticos para el halo de inhibición del efecto antibacteriano de dos tipos de cemento endodóntico con agregado de antibiótico al 5%



Figura N° 3 Halos de inhibición de Sealapex con ciprofloxacino



Figura N° 4 Halos de inhibición de Sealapex con tetraciclina.

RESULTADOS

En la tabla N° 1 se evidencia el mayor promedio de halo de inhibición para el grupo de Sealapex+ Ciprofloxacino con 35,93 que representa alta efectividad antibacteriana o sensible, seguido por el grupo Apexit Plus+ Ciprofloxacino con un promedio de 33,13 que representa una alta efectividad antibacteriana o sensible, para el grupo Apexit Plus+Tetraciclina el promedio fue 10,00 que representa una baja efectividad antibacteriana o resistente al igual que el grupo Sealapex+ Tetraciclina donde el promedio fue cero. El resultado de las desviaciones estándar de los cuatro grupos indica que en todos los casos los datos no están dispersos.

Tabla N° 2 Estadísticos para el halo de inhibición del efecto antibacteriano de dos tipos de cemento

endodóntico con agregado de antibiótico al 10%

Estadísticos	Halo de inhibición en mm				
	A	B	C	D	
N	15	15	15	15	
Media	36,13	12,33	38,20	,00	
Desviación estándar	1,125	,900	1,082	,000	
Mínimo	34	11	36	0	
Máximo	38	14	40	0	
Cuartil	1	35,00	12,00	38,00	,00
	2	36,00	12,00	38,00	,00
	3	37,00	13,00	39,00	,00
A: Apexit Plus+ Ciprofloxacino B: Apexit Plus+Tetraciclina C: Sealapex+ Ciprofloxacino D: Sealapex+Tetraciclina					

En la tabla N° 2 se evidencia el mayor promedio de halo de inhibición para el grupo de Sealapex+ Ciprofloxacino con 38,20 que representa alta efectividad antibacteriana o sensible, seguido por el grupo Apexit Plus+ Ciprofloxacino con un promedio de 36,13 que representa una alta efectividad antibacteriana o sensible, para el grupo Apexit Plus+Tetraciclina el promedio fue 12,33 que representa una baja efectividad antibacteriana o resistente al igual que el grupo Sealapex+Tetraciclina donde el promedio fue cero.

El resultado de las desviaciones estándar de los cuatro grupos indica que en todos los casos los datos no están dispersos.

Tabla N° 3 Estadísticos para el halo de inhibición del efecto antibacteriano de dos tipos de cemento endodóntico con agregado de antibiótico al 25%

Estadísticos	Halo de inhibición en mm				
	A	B	C	D	
N	15	15	15	15	
Media	36,13	12,33	38,20	,00	
Desviación estándar	1,125	,900	1,082	,000	
Mínimo	34	11	36	0	
Máximo	38	14	40	0	
Cuartil	1	35,00	12,00	38,00	,00
	2	36,00	12,00	38,00	,00
	3	37,00	13,00	39,00	,00
A: Apexit Plus+ Ciprofloxacino B: Apexit Plus+Tetraciclina C: Sealapex+ Ciprofloxacino D: Sealapex+Tetraciclina					

En la tabla N° 3 se evidencia el mayor promedio de halo de inhibición para el grupo de Sealapex+ Ciprofloxacino con 39,53 que representa alta efectividad antibacteriana o sensible, seguido por el grupo Apexit Plus+ Ciprofloxacino

con un promedio de 38,53 que representa una alta efectividad antibacteriana o sensible, para el grupo Apexit Plus+Tetraciclina el promedio fue 16,13 que representa una efectividad antibacteriana intermedia y el grupo Sealapex+Tetraciclina el promedio fue cero que representa una baja efectividad antibacteriana o resistente.

El resultado de las desviaciones estándar de los cuatro grupos indica que en todos los casos los datos no están dispersos.

CONCLUSIONES

1. La combinación del cemento endodóntico Sealapex agregados con ciprofloxacino ofrece resultados de mayor efectividad antibacteriana a nivel in vitro frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.
2. Las concentraciones de 5%, 10% y 25% de ciprofloxacino agregado al cemento Apexit Plus generan un halo inhibitorio sensible o una efectividad antibacteriana alta desde las 24 horas hasta las 72 horas.
3. Las concentraciones de 5% y 10% de tetraciclina agregado al cemento Apexit Plus generan un halo inhibitorio resistente y la concentración de 25% de tetraciclina genera un halo inhibitorio intermedio o una efectividad antibacteriana media desde las 24 horas hasta las 72 horas.
4. Las concentraciones del 5%, 10% y 25% de ciprofloxacino agregado al cemento Sealapex generan un halo inhibitorio sensible o una efectividad antibacteriana alta desde las 24 horas hasta las 72 horas.
5. No existe efectividad antibacteriana en la combinación del cemento Sealapex con tetraciclina en las tres concentraciones, desde las 24 horas hasta las 72 horas.
6. La concentración adecuada del antibiótico ciprofloxacino para el cemento Sealapex y para el cemento Apexit Plus es de 5%, y la concentración adecuada del antibiótico tetraciclina para el cemento Apexit Plus es de 25%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pardi G, Guliarte C, Cardozo E, Briceño E. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Acta Odontol. Venez. 2009 Jun; 47(1):1-11.
2. Nageswar R. Endodoncia avanzada. 1a

ed.Venezuela:2011.

3. Armijo Perez J. Presencia de *Enterococcus faecalis* en dientes con diagnóstico de periodontitis apical asintomática [Tesis pregrado]. Santiago: Universidad de Chile; 2011.
4. Brito FT, Olano DT, Teixeira NL, Ramos PC, Nishiyama C. Actividad antimicrobiana y biocompatibilidad de los cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio. Revista ADM 2016; 73 (2): 60-64
5. Macchi R. Materiales Dentales. 4ª ed. Buenos Aires: Panamericana; 2007.
6. Ulloa R. Efecto de los biomateriales de uso endodóntico sobre el crecimiento bacteriano. 1ª ed. Talca; 2004
7. Brito T, Olano T, Texeira L, Ramos C, Keni C. Actividad antimicrobiana y biocompatibilidad de los cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio. Revista ADM 2016; 73 (2): 60-64.
8. Leonardo M, Leal J. Endodontia. Tratamiento de canales radiculares. Sao Paulo: Ed. Panamericana, 2010.
9. Villena H. Terapia pulpar en endodoncia. 2a ed. Madrid: Ed. Ripiano; 2012
10. Yao J, Moellering R. Antibacterial Agents en Manual of Clinical Microbiology. Patrick Murray y col. 1999. American Society for Microbiology
11. Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. Pediamécum [Internet]. España: Edición 2015 [consultado 10 de abril 2018]. Disponible en: <http://www.pediamecum.es>
12. Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica. Vademecum [Internet]. Argentina: Equipo de redacción de IQB, 2012 [consultado 10 de abril 2018]. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c058.htm>
13. TQFarma. Vademécum Tecnoquímicas [Internet]. Colombia: Equipo de redacción de TQ Farma, 2015 [consultado 10 de abril 2018]. Disponible en: <https://www.tqfarma.com/productos/vademecum-mk/antiinfecciosos-sistemicos-generales/ciprofloxacina-mk>
14. Hoelscher A, Bahcall J, Maki J. In vitro evaluation of the antimicrobial effects of a root canal sealer antibiotic combination against *enterococcus faecalis*. Journal of Endodontics 2006; 32:145-147.

15. Actualidades farmacológicas. Tetraciclinas [Internet]. México: Departamento de Farmacología, 2007 [consultado 11 de abril 2018] Disponible en :
<http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no51-1/RFM051000106.pdf>
16. Vicente D, Pérez E. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010;28:122-30
17. Cohen S., Hargreaves K. *Vías de la Pulpa*. 10ª ed. Barcelona: Elsevier; 2011.

Laura Estrada Tatiana
tatiss_laes@hotmail.com
958199871