

J. Pumarola¹
E. Berástegui¹
E. Brau²
C. Canalda²

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los cementos de obturación de conductos radiculares

1 Profesor asociado de Patología y Terapéutica Dental
2 Catedrático de Patología y Terapéutica Dental
Facultad de Odontología.
Universidad de Barcelona.

Correspondencia:
José Pumarola Suñé
C/. Balmes, 397, 3º 2º
08022 Barcelona.

RESUMEN

En este trabajo se ha determinado la concentración mínima inhibitoria (CMI) de siete cementos selladores: Traitement Spad, Endométhasone, N₂ Universal, AH26 con plata, Diaket-A, Tubli Seal y Sealapex, como método de elección en la valoración de su capacidad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* mediante el test de dilución en agar en medio sólido de Mueller-Hinton. Los resultados obtenidos mostraron una mayor actividad antibacteriana para los cementos Traitement Spad y Diaket-A.

PALABRAS CLAVE

Materiales de obturación de conductos radiculares; Actividad antibacteriana; Microbiología; Test de susceptibilidad.

ABSTRACT

The main goal of this investigation is the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of seven root canal sealers: Traitement Spad, Endométhasone, N₂ Universal, AH26 with silver, Diaket-A, Tubli Seal and Sealapex against Staphylococcus aureus in the valuation of its antimicrobial activity, employing the Agar diffusion test.
The results obtained have shown that Traitement Spad and Diaket-A sealers are the most effective.

KEY WORDS

Root canal filling materials; Antibacterial activity; Microbiology; Susceptibility Test.

Tabla 1 Características de los cementos investigados

	<i>Endométhasone</i>	<i>N₂ Universal</i>	<i>Tubli-Seal</i>	<i>AH26 con plata</i>	<i>Diaket-A</i>	<i>Traitement Spad</i>	<i>Sealapex</i>
<i>Fabricante</i>	Septopont Specialites. París. Francia	Indrag Agsa. Locarno. Suiza	Sybron Kerr. Romulus. Michigan. USA	De Trey Freves S.A. Zurich. Suiza Alemania	Espe GMBM. Seefeld. Oberbay. Alemania	Spad. Quetigny. Francia	Sybron Kerr. Romulus. Michigan. USA
<i>Presentación</i>	Polvo y líquido	Polvo y líquido	Pasta-Pasta	Polvo y resina	Polvo y jalea	Polvo y líquido	Pasta-Pasta
<i>Responsables de fraguado</i>	Óxido de zinc y Eugenol	Óxido de zinc y Eugenol	Óxido de zinc y Eugenol	Reacción de polimerización	Reacción de polimerización	Reacción de polimerización	Reacción de polimerización
<i>Ratio</i>	Polvo:líquido 4:1	Polvo:líquido 3,75:1	Pasta:pasta 1:1	Polvo:resina 1,75:1	Polvo:jalea 1:1	Polvo:líquido 1,5:1	Pasta:pasta 1:1

INTRODUCCIÓN

La peculiar disposición anatómica de los conductos radiculares (laterales, anastomosis, bifurcaciones y anfractuosidades) evidenciada por el método de diafanización de Okumara-Aprile, nos confirma que es imposible la limpieza mecánica de la totalidad del espacio intrarradicular⁽¹⁾ al término de la preparación quirúrgica, pudiendo persistir microorganismos, especialmente en gangrenas pulpares y periodontitis. Es por esto, que la elección de un cemento sellador, particularmente en dientes con los conductos infectados, que posea una acción antiséptica sin comprometer severamente su biocompatibilidad, puede contribuir a la eliminación de posibles microorganismos remanentes⁽²⁾.

Hasta la actualidad, todas las investigaciones dirigidas a determinar la efectividad antibacteriana de los cementos selladores⁽³⁻¹²⁾ se ha fundamentado en el test de difusión en agar. Los resultados obtenidos mediante esta técnica pueden conducirnos con frecuencia a interpretaciones erróneas, ya que en él interviene en gran medida el coeficiente de difusión en agar propio de cada cemento. Tanto es así, que si comparamos dos cementos de idéntica actividad antimicrobiana obtendrá mayor halo de inhibición aquél que difunda mejor⁽¹³⁾.

El *objetivo* del presente trabajo es comparar la acción antimicrobiana de los cementos selladores mediante una técnica en la que no influya la difusión de los mismos en el agar. La prueba de susceptibilidad microbiana que permite el cumplimiento de este objetivo es la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) o cantidad mínima de cemento capaz de inhibir el crecimiento microbiano^(14, 15).

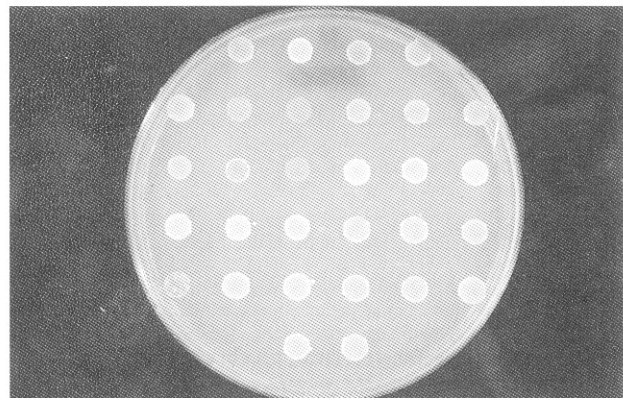


Figura 1. Test de dilución en agar en medio sólido para el cemento Sealapex a la dilución 1:2000, en el que se observa crecimiento de todas las cepas de *Staphylococcus aureus* sembradas (30).

MATERIAL Y MÉTODO

Hemos estudiado la actividad antibacteriana de siete cementos selladores (*Traitement Spad*, *Endométhasone*, *N₂ Universal*, *AH26 con plata*, *Diaket-A*, *Tubli Seal* y *Sealapex*) (Tabla 1), frente a 120 cepas diferentes de *Staphylococcus aureus* (procedentes de aislamientos clínicos significativos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Clínico Provincial de Barcelona), mediante la determinación de su concentración mínima inhibitoria (CMI).

Para llevar a cabo esta investigación realizamos el test de dilución en agar en medio sólido (Figs. 1 y 2); previamente preparamos suspensiones bacterianas con suero fisiológico a la concentración de 0,5 Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ bact) con cada una de las cepas estudiadas. Realiza-

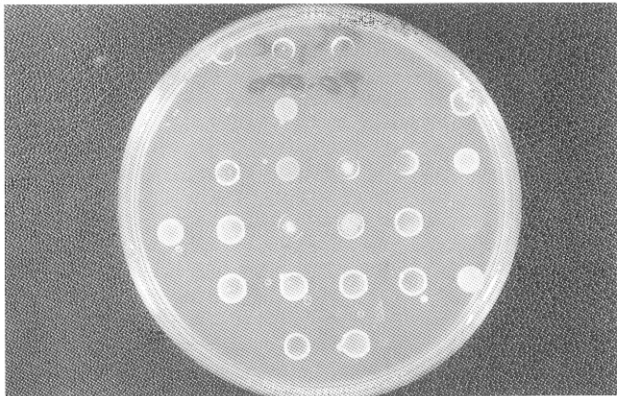


Figura 2. Test de Dilución en Agar en medio sólido para el cemento *Traitement Spad* a la dilución 1:20000 en el que se ha inhibido el crecimiento de 8 cepas de *Staphylococcus aureus* de las 30 sembradas.

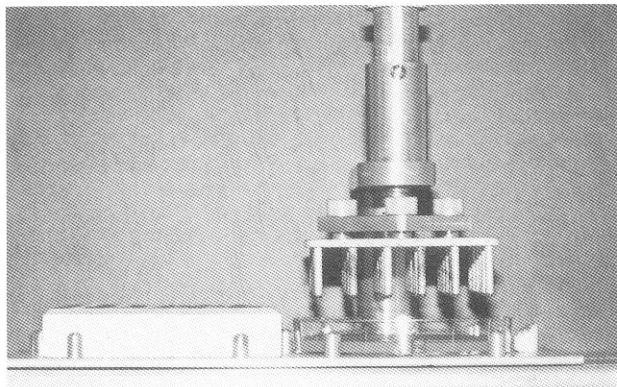


Figura 4. Sonicador Sonifer 250 (Branson, Branson Ultrasonics Corporation) empleado para la disolución de los cementos.

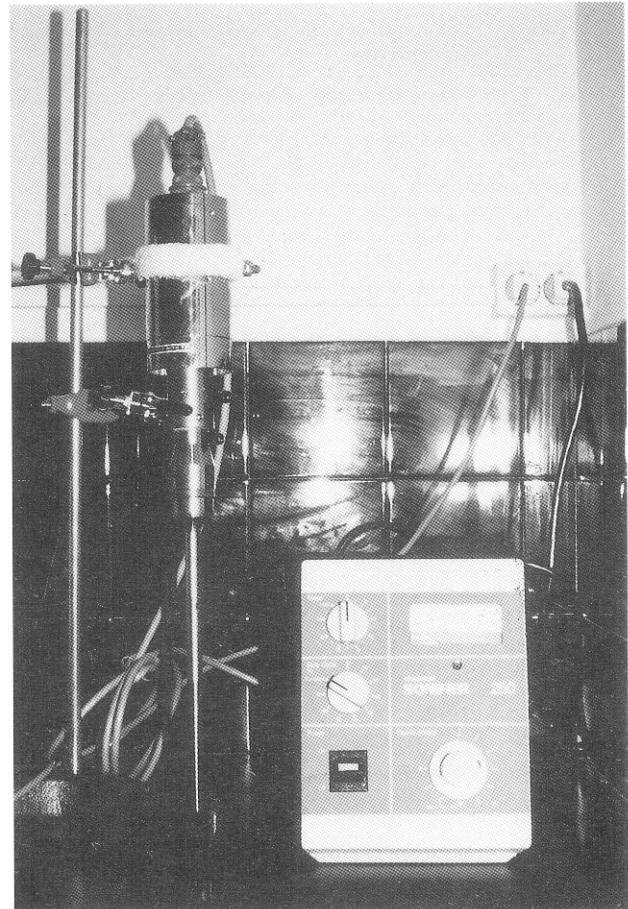


Figura 3. Replicador de Steers, emplado en la siembra en superficie de los medios de cultivo.

mos 18 diluciones de los cementos progresivamente decrecientes, comprendidas entre las concentraciones 1/100 y 1/25000. Los cementos se prepararon de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Antes de que fraguaran se micoatomizaron en medio líquido de Mueller-Hinton mediante el sonicador Sonifer 250 (Branson, Branson Ultrasonics Corporation) (Fig. 3), a una potencia de salida de 30 W durante dos minutos, de forma cíclica a intervalos de 0,5 segundos de activación y 0,5 segundos de descanso para evitar un calentamiento excesivo del medio. Una vez disueltos los cementos llenamos placas de Petri vacías y estériles de 9 centímetros de diámetro con una parte de la dilución y nueve partes de agar de Mueller-Hinton (Oxoid) licuificado a 45°C.

Después de que los medios de cultivo estuvieron secos, se sembraron en superficie (4 placas por cada cemento y dilución) las suspensiones bacterianas mediante el replicador de Steers (30 siembras por placa) (Fig. 4). Finalmente, se incubaron a 37°C durante 20 horas.

Transcurrido el período de incubación se pudo observar crecimiento bacteriano (para cada una de las inoculaciones) en los casos positivos, en forma de disco o conjunto de colonias de aproximadamente 7 mm de diámetro. Consideramos como resultados negativos aquéllos en los que se observó un débil velado, una colonia aislada o ausencia de crecimiento bacteriano. En la determinación de la cantidad mínima inhibitoria

Tabla 2 Los resultados expresan el número de cepas de *Staphylococcus aureus* inhibidos a una mínima concentración de cemento

C.M.I.	Traitement Spad	Endométhasone	AH26 con plata	N ₂ Universal	Diaket-A	Tubli Seal	Sealapex
1/100	-	-	61	-	-	53	-
1/200	-	-	51	-	-	29	-
1/300	-	-	-	-	-	38	2
1/400	-	-	8	-	-	-	-
1/500	-	10	-	6	-	-	93
1/1000	-	102	-	64	-	-	25
1/2000	-	8	-	50	-	-	-
1/3000	-	-	-	-	-	-	-
1/4000	-	-	-	-	-	-	-
1/5000	-	-	-	-	2	-	-
1/6000	-	-	-	-	-	-	-
1/7000	-	-	-	-	-	-	-
1/8000	-	-	-	-	-	-	-
1/9000	16	-	-	-	-	-	-
1/10000	21	-	-	-	24	-	-
1/13000	10	-	-	-	40	-	-
1/15000	55	-	-	-	49	-	-
1/20000	18	-	-	-	5	-	-
1/25000	-	-	-	-	-	-	-
⁽¹⁾ C.M.I.50	1/15000	1/1000	1/100	1/1000	1/13000	1/200	1/500
⁽²⁾ C.M.I.90	1/9000	1/1000	1/100	1/1000	1/10000	1/100	1/500

⁽¹⁾ Los valores expuestos en la tabla de la C.M.I.50 corresponden a la C.M.I. que inhibe el 50% de las cepas probadas.

⁽²⁾ Los valores expuestos en la tabla de la C.M.I.90 corresponden a la C.M.I. que inhibe el 90% de las cepas probadas.

de cemento tomamos como válida la concentración correspondiente a la primera placa que mostró ausencia de crecimiento bacteriano.

Para determinar con exactitud el cemento que posee mayor acción antibacteriana hallamos las CMI 50 y 90, es decir, las concentraciones mínimas de cemento capaz de inhibir el crecimiento del 50% y 90% (Tabla 2) de las cepas probadas respectivamente.

Para el análisis estadístico de los resultados se empleó el paquete estadístico SPSS (Statistical Package of Social Science), con un nivel de significación inferior a 0,05.

RESULTADOS

De todos los valores de CMI obtenidos (Tabla 2), los

más bajos (mayor acción antibacteriana) correspondieron a los cementos Traitement Spad y Diaket-A, alcanzando valores comprendidos entre 1/9000 y 1/20000 para el primero, y entre 1/10000 y 1/20000 para el segundo, es decir, que iniciaban la inhibición microbiana a dichas diluciones.

Los cementos N₂ Universal y Endométhasone obtuvieron idénticos valores de CMI, comprendidos entre las diluciones 1/500 y 1/2000.

El cemento Sealapex obtuvo valores comprendidos entre las diluciones 1/300 y 1/1000, situándose por encima de los cementos Tubli Seal y AH26 con plata, que fueron los que demostraron menor actividad, alcanzando valores de CMI comprendidos entre 1/100 y 1/300 y entre 1/100 y 1/400, respectivamente.

De los resultados obtenidos en la determinación de la CMI 50 y CMI 90 no hubo una coincidencia absoluta

entre ambos grupos de valores para todos los cementos (Tabla 2), por lo que tomamos como referencia la CMI 90, y que comprende la mayoría de las cepas investigadas, es decir, el 90%, resultando más significativo que no el 50% equivalente a la CMI 50.

Atendiendo a los valores de CMI 90 obtenidos, el cemento que demostró mayor eficacia antibacteriana fue el Diaket-A al obtener un valor de 1/10000. Le siguieron en orden decreciente los cementos Traitement Spad (1/9000), N₂ Universal y Endométhasone (1/1000), Sealapex (1/500) y, finalmente, Tubli Seal y AH26 con plata (1/100).

DISCUSIÓN

La gran actividad antibacteriana observada para el cemento Diaket-A no es compartida por Orstavik⁽¹⁰⁾, Pupo y cols.⁽¹¹⁾, Cox y cols.⁽⁵⁾, Grossman⁽⁶⁾, Broisman⁽³⁾ ni Canalda y Pumarola⁽⁴⁾, situándolo por debajo de los cementos Endométhasone, N₂ Universal y AH26 con plata, aunque por encima de los cementos Tubli Seal y Sealapex. Este hecho se explica por el bajo coeficiente de difusión a través del agar del cemento Diaket-A y, por lo tanto, mostrará resultados inferiores con el test de difusión en agar (técnica utilizada por los autores mencionados) que mediante el test de dilución en agar.

Los resultados obtenidos en este estudio con los cementos Endométhasone y N₂ Universal coinciden con la práctica totalidad de las investigaciones realizadas sobre el tema⁽³⁻¹²⁾, confirmando su gran actividad antibacteriana; aunque Grossman⁽⁶⁾ los sitúa por encima de los cementos Diaket-A, AH26 con plata, Tubli

Seal y Sealapex. Orstavik⁽¹⁰⁾ observó para el cemento N₂ Universal una efectividad de casi el doble que el cemento Endométhasone. Los valores de CMI 90 obtenidos con el cemento Sealapex coinciden con lo observado por Canalda y Pumarola⁽⁴⁾ respecto a su mayor actividad que el cemento Tubli Seal.

La escasa actividad mostrada por el cemento AH26 con plata concuerda con las conclusiones deducidas por los autores revisados⁽³⁻¹²⁾, al situarlo inmediatamente por debajo de los cementos con base de óxido de zinc y eugenol.

El cemento Tubli Seal, que ha mostrado la actividad más baja, es situado por Grossman⁽⁶⁾ en valores muy cercanos a los cementos Diaket-A y AH26 con plata.

CONCLUSIONES

1. La única técnica viable por sí sola en la valoración de la capacidad antibacteriana de los cementos selladores es el test de dilución en agar, mediante el que determinamos la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los mismos, ya que en él no influye la capacidad de difusión de los cementos a través del agar.
2. Los cementos que han mostrado mayor actividad antibacteriana han sido Diaket-A y Traitement Spad, seguidos de los cementos Endométhasone y N₂ Universal.
3. La efectividad del cemento Sealapex supera significativamente a los cementos AH26 con plata y Tubli Seal, ya que mostró un valor de CMI 90 a una dilución cuatro veces inferior a la obtenida por los otros dos selladores.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Okumara T. Anatomy of the root canals. *J Am Dent Assoc* 1927;**14**:632.
- 2 Spangberg L, Engstrom B, Langeland K. Biological effects of dental materials. *Oral Surg* 1973;**36**(6):856-871.
- 3 Broisman H, Van Houte J, Gron P, Krakon AA. Antimicrobial effects of N₂ *in vitro*. *Oral Surg* 1978;**45**(1):116-122.
- 4 Canalda C, Pumarola J. Bacterial growth inhibition produced by root canal sealer cements with a calcium hidroxide base. *Oral Surg Oral Med Oral Patbol* 1989;**68**:99-102.
- 5 Cox ST, Hembree JH, McKnight JP. The bactericidal potential of various endodontic materials for primary teeth. *Oral Surg* 1978;**45**(6):947-954.
- 6 Grossman L. Antimicrobial effect of root canal cements. *J Endod* 1980;**6**(6):594-597.
- 7 Kronman JH, Goldman M, Goldman LB, Coleman E, Climent ChK. Microbiologic evaluation of PoliHema root canal filling material. *Oral Surg* 1979;**48**(2):175-177.
- 8 Morrier JJ, Barsotti O, Rocca JP, Benay G, Decoret D, Dumont J. Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de cinq ciments. *Rev Franc Endod* 1988;**7**(4):23-28.
- 9 Onose H, Yamazaki M, Kuroda T. Studies on the antibacterial of

J. Pumarola
E. Berástegui
E. Brau
C. Canalda

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los cementos de obturación de conductos radiculares

- 128** various medicaments used in root canal therapy. *J Nikon Univ Sch Dent* 1969;120-128.
- 10 Orstavik N. Antibacterial properties of root canal sealers, cements and pastes. *Intern Endod J* 1981;14:125-133.
- 11 Pupo J, Biral RR, Benatti O, Abe A, Valdrhigi L. Antimicrobial effects of endodontic filling cements on microorganisms from root canals. 1983;55(6):622-627.
- 12 Stevens RH, Grossman. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. *J Endod* 1983;9(9):372-374.
- 13 Foz A, Roy C. El antibiograma. En: Foz AL. *Patología infecciosa básica*. IDEPSA. 1981, Barcelona. Págs. 66-75.
- 14 Daghet GL, Chabert YA. Bacteriostasis. Determinación de la concentración mínima inhibitoria y antibiogramas. En: *Técnicas en bacteriología*. III. JIMS, Barcelona, 1977. Págs. 135-138.
- 15 Sutter VL. Pruebas de susceptibilidad. En: García Rodríguez JA. *Bacterias anaerobias*. Universidad de Salamanca, 1980. Págs. 515-526.