

# Evaluación *Ex Vivo* de la Efectividad de Pastas Antimicrobianas Utilizadas como Medicación Intracanal

## *Ex Vivo* Evaluation of the Efficacy of Antibiotic Pastes Used as Intracanal Medication

Melissa Cristina Calderón Brenes MQC<sup>1</sup>; Evelyn Rodríguez Cavallini MQC, MSc<sup>1</sup>

1. Laboratorio de Investigación en Bacteriología Anaerobia y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

Autor de correspondencia: Dra. Evelyn Rodríguez Cavallini - evelyn.rodriguez@ucr.ac.cr

Recibido: 12-VI-2015

Aceptado: 27-VI-2015

### RESUMEN

Las infecciones de origen endodóntico se establecen posterior a la necrosis del tejido pulpar, siendo algunas veces resistentes a los protocolos terapéuticos convencionales; por ello se hace necesaria la utilización de distintas alternativas de medicación intracanal que abarquen un espectro de acción más amplio para aumentar el índice de éxito del tratamiento endodóntico. En el presente estudio se demostró la colonización bacteriana de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Actinomyces odontolyticus* (ATCC 17929) y *Prevotella bucae* (LIBA-6229) sobre cuadros de dentina y en un modelo de infección con canales radiculares de dientes humanos. La efectividad de dos pastas antimicrobianas (amoxicilina con ácido clavulánico-ciprofloxacina y metronidazol-amoxicilina-ciprofloxacina), con respecto al efecto de una pasta a base de hidróxido de calcio, fue evaluada. Las pastas de medicación con antibióticos fueron igualmente efectivas para la eliminación de las bacterias, siendo ambas más efectivas que la pasta de hidróxido de calcio, en ambos modelos de investigación.

### PALABRAS CLAVE

Antibióticos, Periodontitis Apical, Hidróxido de Calcio, Tratamiento Endodóntico, Microbiología

### ABSTRACT

Clinical and research reports evidence cases of failed endodontic treatment complaining bacterial resistance to conventional therapeutic protocols. Thus, the use of an alternative intracanal medication covering a broader microbial spectrum in order to increase the success rate of endodontic treatment is necessary. In the present study the bacterial colonization of *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Actinomyces odontolyticus* (ATCC 17929) and *Prevotella bucae* (LIBA-6229) on dentin specimens and in an *ex vivo* model simulating human root canal infection was demonstrated. Our study evaluated the antimicrobial effectiveness of two poliantibiotic pastes

(amoxicillin with clavulanic acid-ciprofloxacin and metronidazole-amoxicillin-ciprofloxacin), and calcium hydroxide dressing. Both antibiotic intracanal dressings were equally effective for bacteria eradication, however in both research models, poliantibiotic pastes reveal higher antimicrobial effectiveness than calcium hydroxide.

## KEYWORDS

Antibiotics, apical periodontitis, calcium hydroxide, endodontic treatment, microbiology

## INTRODUCCION

Las infecciones endodónticas son una patología frecuente en la consulta odontológica, pues el ambiente endodóntico favorece el predominio de bacterias anaerobias (Dewhirst et al, 2010), que avanzan por el canal radicular, ingresan a la región periapical y ocasionan una periodontitis con inflamación y destrucción de tejidos (Nair, 2004). Más del 90 % de los agentes aislados en casos de infección son anaerobios de los géneros *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Eubacterium* y *Peptostreptococcus*, los cuales constituyen el 70 % de la microbiota endodóntica, así como el aerobio facultativo *Enterococcus faecalis* (Tanner et al, 2011; Dewhirst et al, 2010; Nair, 2004).

Las técnicas utilizadas para la desinfección del sistema radicular se enfocan en tratar de eliminar las bacterias que se hayan establecido en el canal y que puedan producir una infección y subsecuentemente fallo de la terapia endodóntica (Pereira, Bonato y Tungs, 2002). En determinadas circunstancias, para remitir el proceso infeccioso y lograr la reparación de los tejidos, es necesario realizar procedimientos quirúrgicos como el drenaje o debridamiento de la zona dañada, y terapéuticos como la utilización de agentes físicos o químicos, como los antimicrobianos. Con frecuencia se recomienda realizar una medicación intracanal, con el fin de promover una mayor desinfección del canal radicular (Vieira et al, 2008), ya que de esto depende el éxito del tratamiento (Ozbek et al, 2008). Dentro de las medicaciones intracanal

más utilizadas están el gluconato de clorhexidina al 0,2 %, el cual es muy efectivo pero irritante e inflamatorio para los tejidos dentales (Teixeira y Cortés, 2005); la pasta a base de hidróxido de calcio, que se ha asociado con necrosis por licuefacción en los tejidos aledaños y amplia resistencia bacteriana, además de que puede dejar espacios vacíos entre los canales radiculares, y las pastas antibióticas con monociclinas, que pueden dejar una coloración desagradable en los dientes y más bien se ha propuesto cambiar su composición (Vieira et al, 2008).

También, se ha propuesto la utilización de mezclas antibióticas para lograr un efecto antimicrobiano y poca toxicidad a los tejidos si se utilizan en las combinaciones y concentraciones apropiadas (Norrington et al, 2008). Debido a que existen pocos estudios acerca de la eficacia de esta alternativa de tratamiento, su uso no ha sido muy diseminado dentro del ámbito odontológico.

Los ensayos *in vitro* se realizan con agentes bacterianos aislados de infecciones periapicales a los que se les determina su resistencia antimicrobiana o los factores que afecten su crecimiento. Por otro lado, los ensayos *ex vivo* consisten en realizar colonizaciones bacterianas del sistema radicular en tejido radicular, o bien en dientes humanos donde se evalúa la eficacia de terapias antimicrobianas (tanto químicas como físicas) frente a agregados bacterianos o biopelículas (Vaidyanathan et al, 2009). Los modelos *ex vivo* asemejan condiciones del diente de manera que pueden ser utilizados para evaluar

metodologías que no se pueden llegar a realizar de manera experimental en pacientes humanos.

En este estudio se demostró la colonización de bacterias anaerobias en cuadros de dentina mediante un modelo *in vitro* y se realizó un modelo de infección *ex vivo* del conducto radicular de piezas dentales, con el objetivo de evaluar la eficacia de dos pastas de medicación intracanal con mezclas antibióticas frente al uso de una tradicional a base de hidróxido de calcio.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron las siguientes cepas bacterianas: *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Actinomyces odontolyticus* (ATCC 17929), *Prevotella bucae* (LIBA-6229) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) obtenidas a partir de la colección de bacterias del Laboratorio de Investigación en Bacteriología Anaerobia, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Para el modelo *in vitro*, se prepararon cuadros de dentina de aproximadamente 3 mm x 4 mm x 2 mm, a partir de dientes unirradiculares de extracciones dentales realizadas, con fines ajenos a los de este estudio, en pacientes de la clínica de la Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica. Para el modelo *ex vivo* se utilizaron piezas unirradiculares con conductos rectos (también extraídas por motivos ajenos a este estudio) a las que se les amplió el conducto radicular para obtener un conducto cónico de tamaño similar, con capacidad entre 30 y 50  $\mu$ L. Estas piezas se desinfectaron con al menos, dos lavados con hipoclorito de sodio al 3 % dentro de los canales radiculares (Souza et al. 2009). Todos los materiales se autoclavaron durante 15 minutos a 121 °C, se incubaron a 35 °C por 48 horas y se autoclavaron nuevamente durante 15 minutos a 121 °C.

Los antibióticos que se utilizaron fueron Metronidazol (AARTI DRUGS LTD), Amoxicilina

(Fersinsa Gb), Ciprofloxacina (ZHEJIAN CHEMLINE INTERN) y Amoxicilina con ácido clavulánico (Laboratorios Roemmers) en una concentración final de 10  $\mu$ g/mL. Se utilizaron dos mezclas antibióticas en las pastas: amoxicilina con ácido clavulánico y ciprofloxacina (AAC) y metronidazol, amoxicilina y ciprofloxacina (MAC), utilizando como vehículo agua destilada. Como control de comparación, se utilizó una pasta de hidróxido de calcio Ca(OH)<sub>2</sub> comercial (Ultracal XS, Ultradent, USA).

## MODELO *IN VITRO*: COLONIZACIÓN BACTERIANA EN LOS CUADROS DE DENTINA

(adaptado de Souza et al, 2010; Norrington et al, 2008, Pereira et al, 2002; Chávez et al, 2010).

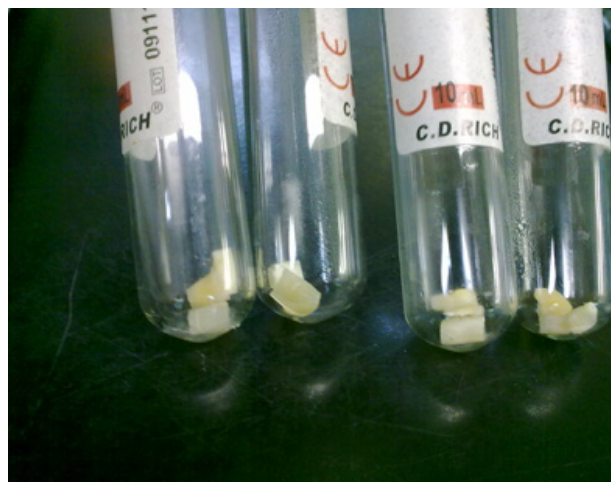
Se creció cada una de las bacterias anaerobias (*P. gingivalis*, *A. odontolyticus* y *P. bucae*) en caldo Infusión Cerebro-Corazón (BHI, por sus siglas en inglés) suplementado con extracto de levadura, vitamina K y hemina y prerreducido (Jousimies-Somer et al. 2002). Todos los tubos se incubaron en cámara anaeróbica (Bactron, SheL Lab®), con atmósfera de 90 % N<sub>2</sub>, 5 % H<sub>2</sub> y 5 % CO<sub>2</sub> por 5 a 7 días hasta alcanzar una turbiedad semejante al tubo 0.5 de Mc Farland (aproximadamente 10<sup>9</sup> bacterias/mL, Jousimies-Somer et al. 2002). *E. faecalis* se inoculó en Caldo Tripticosa Soya (CTS), que se incubó 24 horas a 37 °C en aerobiosis hasta obtener la misma turbidez. De cada tubo así estandarizado, se tomó 1.5 mL y se colocó en tubos de ensayo estériles con 3 cuadros de dentina estériles/tubo (Figura 1). Todo esto fue incubado durante 7 días a 37 °C en anaerobiosis o 5 días en aerobiosis según el tipo de bacteria como se indicó antes; a los días 1, 4 y 6, se agregó 0.5 mL de BHI en el caso de bacterias anaerobias o 0.5 mL de CTS a los días 1 y 4 en el caso de *E. faecalis*, con el fin de permitir que las bacterias se fijaran a la dentina y lograr su colonización. A los días 7 o 5 de incubación se retiraron los cuadros de dentina y se colocaron frente a 10  $\mu$ g/mL de cada pasta de medicación intracanal en medio líquido con BHI o CTS, con un volumen final de 1 mL. Como control positivo

se utilizó un tubo con 3 cuadros de dentina e inóculo bacteriano sin pasta antimicrobiana. Todos los tubos se incubaron a 37 °C en anaerobiosis por 7 días o en aerobiosis por 5 días. Luego de esta segunda incubación, y manteniendo la atmósfera anaerobia o aerobia según el caso, los cuadros de dentina se traspasaron a tubos con 1 mL de solución salina estéril (SSE) y se agitaron en vórtex durante un minuto con el fin de desprender las bacterias que permanecieran adheridas a los cuadros de dentina. Para los recuentos de bacterias anaerobias, de cada suspensión bacteriana se realizaron diluciones decimales (desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-8}$ ) y se inocularon en placas de Agar Sangre Suplementado (ASS) incubadas por cinco días en anaerobiosis a 37 °C (Jousimies-Somer et al. 2002). Los recuentos de *E. faecalis* se realizaron en Agar Tripticosa Soya (ATS) incubados durante 48 horas a 37 °C en aerobiosis. Se determinó la cantidad de UFC/ml para evaluar la disminución del número de bacterias con las pastas antibióticas con respecto al control positivo sin pasta antimicrobiana.

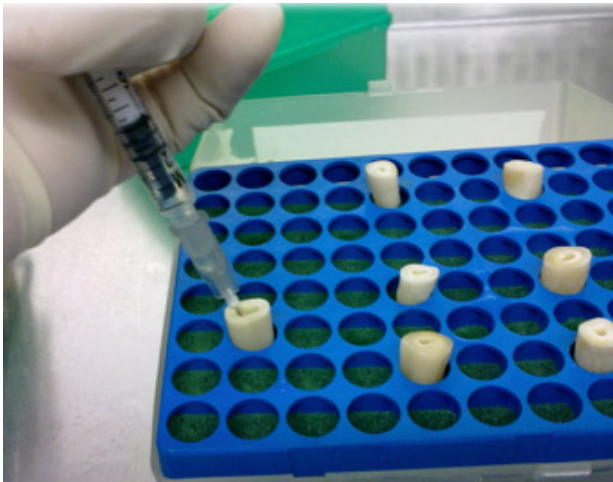
#### MODELO *EX VIVO* EN CANAL RADICULAR DE DIENTES HUMANOS

Se inoculó, dentro del canal radicular de cada uno de los dientes estériles, entre 30 y 50  $\mu$ L de BHI o CTS inoculado con un cultivo de  $10^9$  bacterias/mL (obtenido como se indicó antes) de cada una de las bacterias por evaluar. Los dientes, así inoculados, se fijaron sobre una base de esponja vegetal dentro de una caja autoclavable con tapa, en atmósfera húmeda (Figura 2). El montaje anterior se incubó durante 7 días en anaerobiosis o por 5 días en aerobios a 37 °C, agregando BHI o CTS inoculado en los primeros tres días de incubación, y BHI o CTS estéril los siguientes dos días, con el fin de promover la formación de una biopelícula sobre los conductos del canal radicular. Al término de esta incubación, se retiró el exceso de inóculo y se aplicaron 10  $\mu$ g/mL de cada una de las pastas de medicación

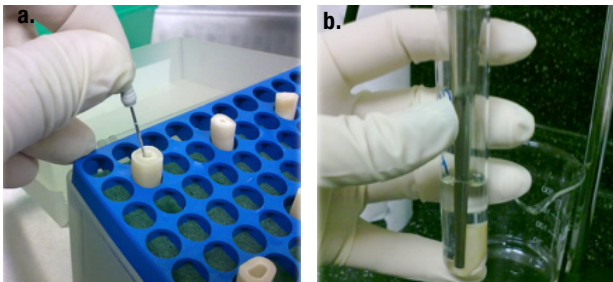
intracanal. Todo esto fue incubado a 37 °C por 7 días en anaerobiosis o 5 días en aerobiosis, agregando agua destilada estéril a la esponja vegetal para evitar la deshidratación de los dientes. Al concluir de esta segunda incubación, se limó el interior del canal con una lima K #40 para desprender las bacterias que hubieran quedado adheridas a las paredes del canal radicular y se realizaron tres lavados con un volumen total de 1 mL de SSE para extraer la pasta y las bacterias en suspensión. Además, cada espécimen se colocó dentro de un tubo con 5 mL de solución salina estéril y fue llevado al ultrasonicador (a una frecuencia de 15 Hz durante 30 segundos) para lograr desprender las bacterias adheridas al diente formando biopelículas (Figura 3). A partir de estas dos suspensiones se realizaron diluciones decimales y recuentos en ASS o ATS para contabilizar el número de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/mL) viables luego de la aplicación de las pastas y compararlo contra los controles positivos para cada una de estas pastas y de las bacterias. Cada resultado representa la suma de bacterias en el líquido del canal radicular más las liberadas, luego del tratamiento con el ultrasonicador que son las que se encontraban formando el biofilm.



**Figura 1.** Modelo in vitro: colonización bacteriana en los cuadros de dentina



**Figura 2.** Modelo *ex vivo*: inoculación del canal radicular en dientes humanos



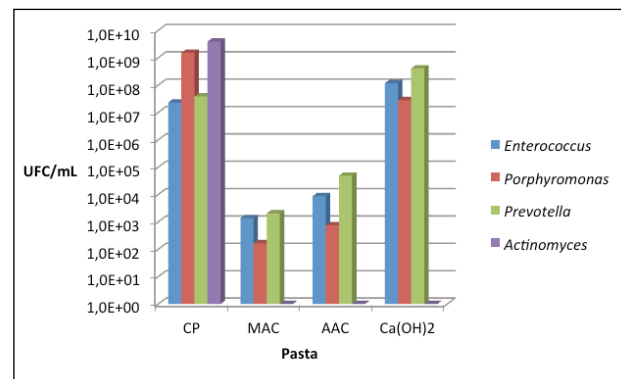
**Figura 3.** Recuperación de biopelícula.  
a. Raspado con lima. b. Desprendimiento con ultrasonificación

## RESULTADOS

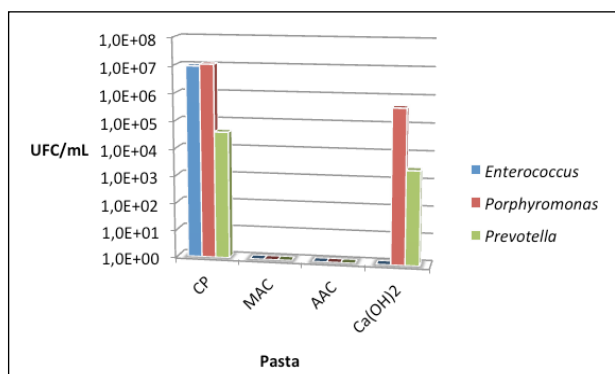
Se logró colonizar satisfactoriamente la superficie de los cuadros de dentina con cada una de las bacterias por evaluar, pues se obtuvieron recuentos desde  $2,3 \times 10^7$  UFC/mL para *Enterococcus faecalis* hasta  $3,9 \times 10^9$  UFC/mL para *Actinomyces odontolyticus*. Al evaluar el efecto de las pastas antimicrobianas sobre esta colonización, se observó que la pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  no fue efectiva para impedir el crecimiento y sobrevivencia de *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis* ni *Prevotella bucae*, pues el crecimiento bacteriano fue muy similar en los cuadros de dentina con y sin dicha pasta; solo fue efectiva para combatir a *Actinomyces odontolyticus* (Cuadro 1, Figura

4). Por el contrario, las pastas MAC y AAC sí fueron efectivas en limitar significativamente el crecimiento de *E. faecalis*, *P. gingivalis* y *P. bucae*, pues redujeron su crecimiento en más de un 50 % (desde 3 hasta 7 logaritmos respecto de los recuentos de los cultivos control sin medicación). Ambas pastas redujeron en un 100 % el crecimiento de *A. odontolyticus* (Tabla 1, Figura 4).

Al analizar el crecimiento de cada una de las bacterias en los canales radiculares, se observó que *A. odontolyticus* no logró una adecuada adherencia a la superficie dentinaria, pues los recuentos bacterianos fueron iguales o inferiores a 10 UFC/mL, razón por la cual no se prosiguió con esta bacteria en este modelo. Con respecto a las otras bacterias en estudio, se observó que la pasta menos efectiva en limitar el crecimiento fue igualmente la de  $\text{Ca(OH)}_2$ , pues aunque redujo en un 100 % el crecimiento de *E. faecalis* no logró disminuir significativamente el crecimiento de las otras dos bacterias. Las pastas MAC y AAC fueron igualmente efectivas y redujeron completamente el crecimiento de las tres bacterias evaluadas (Tabla 2, Figura 5).



**Figura 4.** Efecto de las pastas antimicrobianas sobre bacterias adheridas en los cuadros de dentina: modelo *in vitro* (Fuente: Tabla 1). CP: control positivo sin pasta antimicrobiana, MAC: pasta con metronidazol, amoxicilina y ciprofloxacina, AAC pasta con amoxicilina con ácido clavulánico y ciprofloxacina,  $\text{Ca(OH)}_2$  : pasta de hidróxido de calcio comercial. UFC/mL: Recuento bacteriano expresado en unidades formadoras de colonias por mililitro.



**Figura 5.** Efecto de las pastas antimicrobianas sobre bacterias adheridas en el canal radicular: modelo *ex vivo* (Fuente: Tabla 2). CP: control positivo sin pasta antimicrobiana, MAC: pasta con metronidazol, amoxicilina y ciprofloxacina, AAC pasta con amoxicilina con ácido clavulánico y ciprofloxacina, Ca(OH)<sub>2</sub> : pasta de hidróxido de calcio comercial. UFC/mL: Recuento bacteriano expresado en unidades formadoras de colonias por mililitro.

## DISCUSIÓN

En todos los casos fue posible demostrar la colonización bacteriana sobre los cuadros de dentina, lo que demuestra la idoneidad de las condiciones de incubación y crecimiento para cada una de las bacterias por ensayar. Sin embargo, no fue posible lograr crecimiento de *Actinomyces odontolyticus* en el modelo *ex vivo*. Esta bacteria, en particular, es mucho más fastidiosa metabólicamente (Vaidyanathan et al. 2009) en comparación con las demás, por lo que es posible que muriera durante el procedimiento, situación que no se da en algunas regiones del canal radicular *in vivo*, ya que son ricas en nutrientes (Hsiao et al. 2012). Quizá la atmósfera de incubación en el canal radicular, totalmente cerrado, impidió el crecimiento de este microaerófilo, que sí logra crecer cuando la atmósfera es controlada, como sucedió en los cuadros de dentina. Esta es la razón por la que no se procedió a realizar el modelo *ex vivo* pues no se logró el crecimiento en los controles sin medicación, aun cambiando algunas condiciones de incubación. Para mejorar el crecimiento de esta bacteria en modelos *ex vivo* y así poder estudiar su comportamiento y susceptibilidad antimicrobiana, se podría realizar un estudio referente a la capacidad de bacterias

del género *Actinomyces* de crear asociaciones simbióticas con otras especies bacterianas para formar biofilms (Periasamy et al. 2009).

Hubo necesidad de autoclavar los dientes en dos ocasiones consecutivas, pues un solo paso podría permitir el crecimiento de bacterias que resistieran el proceso térmico en una superficie dental irregular. No se consideró el uso de otros métodos de esterilización como el de gas óxido de etileno, el cual ha sido utilizado en otros experimentos similares (Vinod et al. 2012, Souza et al. 2009), pues se consideró que el gas podría, eventualmente, quedar atrapado dentro del sistema de conductos radiculares, y al ser liberado durante el experimento afectaría negativamente a las bacterias y disminuiría falsamente los recuentos; también, podría ser que el gas interactuara con la pasta de medicación intracanal y alterara su actividad. Además, al esterilizar con vapor de agua a alta presión y temperatura, como sucede en el proceso de autoclavado, los dientes mantienen la humedad requerida para el experimento.

El efecto de la pasta de Ca(OH)<sub>2</sub> sobre las bacterias evaluadas fue menos efectivo que el de ambas pastas con medicación antibiótica, pues solo logró inhibir el crecimiento de *A. odontolyticus* en los cuadros de dentina y de *E. faecalis* en los canales radiculares. Esta resistencia bacteriana al efecto del Ca(OH)<sub>2</sub> supone la presencia de bombas de reflujo y de intercambio iónico en las bacterias que ayudan a neutralizar su microambiente de manera muy eficaz y facilitar así su sobrevivencia (Kayaoglu & Orstavik, 2004). Lo anterior coincide con lo que reporta en la literatura, que describe que la resistencia a dicha pasta ha ido aumentando debido al amplio uso que se le ha dado en el tiempo (Vaidyanathan et al. 2009; Nair, 2004; Carreira et al. 2007).

Aunque se ha descrito la resistencia al metronidazol en las especies del estudio (Cárdenas & Testa, 2008), también así el efecto sinérgico del

metronidazol y la ciprofloxacina (Carreira et al. 2007; Gaetti et al. 2007), así como la sensibilidad descrita hacia la amoxicilina con ácido clavulánico (Gaetti et al. 2007), lo que contribuiría a explicar por qué las pastas con mezclas de antibióticos sí redujeron significativamente el crecimiento de las bacterias evaluadas.

Debe tomarse en consideración la arquitectura tridimensional del conducto radicular (Norrington et al. 2008; Nair, 2004), pues no es lo mismo agregar un microbicida a las bacterias en medio acuoso y adheridas a una superficie lisa, que agregarlo a una biopelícula de bacterias sobre una superficie irregular. Comparativamente, en el modelo con los cuadros de dentina se agregó una concentración antimicrobiana final de 10 µg/mL, la cual se considera es la concentración que alcanza la pasta de medicación intracanal dentro de los conductos radiculares ramificados (Nair, 2004; Núñez & García, 2010). En contraste, en el modelo *ex vivo* se utilizó la pasta pura, lo que quiere decir que era de esperar que se obtuvieran recuentos más bajos que en el modelo con los cuadros de dentina.

Los resultados en el modelo *ex vivo* también revelaron menores concentraciones de bacterias en los controles sin pasta antimicrobiana que en el modelo *in vitro*, lo que podría explicarse por la irregularidad de la superficie dentinaria, que no necesariamente va a favorecer el crecimiento, como sí lo hace un medio acuoso; además, las bacterias se ven afectadas más directamente por sus propios desechos. Esa misma irregularidad del canal radicular podría también generar zonas de mayor absorción de los antibióticos que se liberarían con mayor lentitud y con esto aumentar su capacidad microbicida y prevenir la proliferación de las bacterias.

Dado que un canal radicular no es una superficie lisa, existe la posibilidad de que las bacterias se puedan quedar atrapadas entre sus irregularidades y esto les confiere ventaja para su supervivencia a la hora de aplicar la pasta de medicación intracanal (Estrela et al, 2012). De ahí la necesidad de realizar modelos de infección *ex vivo*, pues un experimento realizado únicamente *in vitro* no toma en cuenta el impacto que genera la anatomía del conducto radicular sobre el éxito en un tratamiento. Este estudio pudo demostrar la efectividad de las pastas con antimicrobianos (MAC y AAC) tanto en el procedimiento sobre los cuadros de dentina como el estudio *ex vivo* en los canales radiculares de los dientes. Las pastas de medicación intracanal con antibióticos son una opción terapéutica muy novedosa y aunque se requieren de mayores estudios para poder validar su uso y demostrar su efectividad *in vivo* (Vinod et al. 2012 y Estrela et al, 2012), los datos de este estudio muestran resultados muy alentadores e impulsan el desarrollo de investigaciones similares.

**Tabla 1.** Efecto de las pastas antimicrobianas sobre bacterias adheridas en los cuadros de dentina: modelo *in vitro*

Pasta / Bacteriana	Control positivo (UFC/mL)*	MAC** (UFC/mL)	AAC*** (UFC/mL)	Ca(OH)**** (UFC/mL)
<i>Enterococcus faecalis</i>	2,3 x 10 <sup>7</sup>	1,4 x 10 <sup>3</sup>	8,7 x 10 <sup>3</sup>	1,2 x 10 <sup>8</sup>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1,5 x 10 <sup>9</sup>	1,7 x 10 <sup>2</sup>	7,5 x 10 <sup>2</sup>	2,8 x 10 <sup>7</sup>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	3,8 x 10 <sup>7</sup>	2,1 x 10 <sup>3</sup>	4,9 x 10 <sup>4</sup>	4,1 x 10 <sup>8</sup>
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	3,9 x 10 <sup>9</sup>	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL

\*UFC/mL: Unidades formadoras de colonias por mililitro; \*\* MAC: pasta con metronidazol, amoxicilina y ciprofloxacina; \*\*\* AAC pasta con amoxicilina con ácido clavulánico y ciprofloxacina; \*\*\*\*Ca(OH)<sub>2</sub> : pasta de hidróxido de calcio comercial.

**Tabla 2.** Efecto de las pastas antimicrobianas sobre bacterias adheridas en el canal radicular: modelo *ex vivo*

Pasta / Bacteriana	Control positivo (UFC/mL)*	MAC** (UFC/mL)	AAC*** (UFC/mL)	Ca(OH)**** (UFC/mL)
<i>Enterococcus faecalis</i>	9,1 x 10 <sup>6</sup>	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1,1 x 10 <sup>7</sup>	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	4,3 x 10 <sup>5</sup>
<i>Prevotella bucae</i>	4,0 x 10 <sup>4</sup>	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	2,7 x 10 <sup>3</sup>

\*UFC/mL: Unidades formadoras de colonias por mililitro; \*\* MAC: pasta con metronidazol, amoxicilina y ciprofloxacina; \*\*\* AAC pasta con amoxicilina con ácido clavulánico y ciprofloxacina; \*\*\*\*Ca(OH)<sub>2</sub>: pasta de hidróxido de calcio comercial.

## REFERENCIAS

Cárdenas, I. & Testa, M. (2008). Estudio de La sensibilidad a los antimicrobianos de patógenos periodontales. *Acta Odontológica Venezolana*, 46(3), 273-277.

Carreira, C., Ferreira, S., Olavo, A. & Lage, J. (2007). Antimicrobial effect of intracanal substances. *Journal of Applied Oral Science*, 15(5), 453-458.

Chávez, L., Bergenbaltz, G. Svensäter, G. (2010). The effects of antimicrobials on endodontic biofilms bacteria. *Journal of Endodontics*, 36(1), 70-76.

Dewhirst, F., Chen, T., Izard, J., Paster, B., Tanner, A., Yu, W., Lakshmanan, A. & Wade, W. (2010). The Human Oral Microbiome. *Journal of Bacteriology*, 192(19), 5002-5017.

Estrela, C., Sousa, M., Silveira, D., Goncalves, A., Oliveira, T. & Djalma, J. (2012). A preliminary study of the antibacterial potencial of cetylpyridium chloride in root canals infected by *E. faecalis*. *Brazilian Dental Journal*, 23(6), 645-653.

Gaetti, E., Landucci, L., Lins, S., Vieira, E. & Oliviera, S. (2007). Susceptibility of strict and

facultative anaerobes isolated from endodontic infections to metronidazol and beta-lactams. *Journal Applied Oral Science*, 15(6), 539-545.

Hsiao, W., Li, K., Liu, Z., Jones, C., Fraser, C. & Fouad, A. (2012). Microbial transformation from normal oral microbiota to acute endodontic infections. *BMC Genomics*, 13, 345-360.

Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EL, Wexler HM, Finegold S. (2002). *Wadsworth-KTL: Anaerobic Bacteriology Manual*. 6th ed. California: Star Publishing Company.

Kayaoglu. G. & Orstavik, D. (2004). Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15(5), 308-320.

Nair, P. (2004). Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15(6), 348-381.

Norrington, D., Ruby, J., Beck, P. & Eleazer, P. (2008). Observations of biofilms growth on human dentin and potential destruction after exposure to antibiotics. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 105, 526-529.

Núñez, D. & García, L. (2010). Bioquímica de la caries dental. *Revista Habana de Ciencias Médicas*, 9(2), 156-166.

Ozbek, S., Ozbek, A. & Erdogan, A. (2009). Analysis of *Enterococcus faecalis* in samples from Turkish patients with primary endodontic infections and failed endodontic treatment by real-time PCR SYBR green method. *Journal of Applied Oral Science*, 17(5), 370-374.

Pereira, J., Bonato, A. & Tung, M. (2002). Replica of human dentin treated with different desensitizing agents: a methodological SEM study in vitro. *Brazilian Dental Journal*, 13(2), 75-85.

Periasamy, S., Chalmers, N., Du-Thumm, L. & Kolenbrander, P. (2009). *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 requires *Actinomyces naeslundii* ATCC 43146 for growth on saliva in a three-



- species community that includes *Streptococcus oralis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(10), 3250-3257.
- Souza, L., Brito, P., Machado, J., Alves, F., Moreira, E., Sampaio, H., Rôças, I. & Siqueira, J. (2010). Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal reduction of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*, 36(1), 292-296.
- Tanner, A., Mathney, J., Kent, R., Chalmers, N., Hughes, C., Loo, C., Pradhan, N., Kanasi, E., Hwang, J., Dahlan, M., Papadopoulou, E. & Dewhirst, F. (2011). Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(4), 1464-1474.
- Teixeira, K. & Cortés, M. (2005). Estado actual de la indicación de antimicrobianos para la medicación intracanal. *Acta Odontológica Venezolana*, 43(2), 177-180.
- Vaidyanathan, M., Sheehy, E., Gilbert, S. & Beighton, D. (2009). Antimicrobial properties of dentine bonding agents determined using in vitro and ex vivo methods. *Journal of Dentistry*, 37(7), 514-521.
- Vieira, F., Paniz, R., Reis, M., Marca, C., Pelisser, A. (2008). Intracanal and systemic medications recommended at Brazilian dental schools for urgency treatment of acute periapical abscess. *Journal of Dental Science*, 23(3), 278-282.
- Vinod, M., Madhusudhana, K., Sivakumar, N., Venugopal, T. & Reddy, R. (2012). Antimicrobial efficiency of silver diamine fluoride as an endodontic medicament – An ex vivo study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 3(3), 262-264.