

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES TIPOS DE CEMENTOS ENDODÓNTICOS

Recibido para publicación: 07/01/2008

Aceptado para publicación: 22/04/2008

- Juliane M G Tanomaru¹, Mário Tanomaru-Filho¹, Maraísa Palhão Verri², Evandro Watanabe², Izabel Y Ito²

Running title: Antimicrobial activity of sealers

1. Restorative Dentistry, Araraquara Dental School, São Paulo State University (UNESP), Araraquara, SP, Brazil
2. Microbiology, Ribeirão Preto Pharmaceutics School, University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Correspondence: Mário Tanomaru-Filho, Rua Humaitá, 1901, apto. 182, Centro, 14801-385 Araraquara, SP, Brasil. Telephone +55-16-3301-6390, Fax. +55-16-3301-6392. e-mail: tanomaru@uol.com.br

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de los cementos endodónticos a base de resina (Epiphany, Sealer 26 e AH Plus), cementos a base de silicona (Roeko Seal) y cementos de óxido de zinc y eugenol (Intrafill), sobre cinco diferentes especies de microorganismos. El método utilizado fue el de difusión en Agar. Una capa base fue confeccionada usando Agar Müller-Hinton (MH) y los pozos fueron formados por la remoción del Agar. Los materiales fueron colocados en los pozos después de su manipulación. Los microorganismos usados fueron: *Micrococcus luteus* (ATCC 9341), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Escherichia coli* (ATCC10538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Candida albicans* (ATCC 1023) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 10541). Las placas fueron mantenidas a temperatura ambiente por 2 horas para pre-difusión y posteriormente incubadas a 370 C por 24 horas. Los resultados demostraron que el cemento Epiphany y el Sealer 26 presentaron actividad antimicrobiana sobre todas las cepas evaluadas. El cemento AH Plus y el Intrafill mostraron una acción antimicrobiana sobre todos los microorganismos excepto P aeruginosa y el Roeko Seal no fue efectivo sobre ningún microorganismo.

Palabras claves: Material obturador de canal radicular, Actividad antimicrobiana.?

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of root canal sealers based on resins (Epiphany, Sealer 26 and AH Plus), silicon (Roeko Seal) and zinc oxide and eugenol (Intrafill), against five different microorganism strains. The agar diffusion method was used. A base layer was made using Müller-Hinton agar (MH) and wells were formed by removing agar. The materials were placed into the wells immediately after manipulation. The microorganisms used were: *Micrococcus luteus* (ATCC9341), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Escherichia coli* (ATCC10538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Candida albicans* (ATCC 10231), and *Enterococcus faecalis* (ATCC 10541). The plates were kept at room temperature for 2 h for prediffusion and then incubated at 370 C for 24 h. The results showed that Epiphany and Sealer 26 presented antimicrobial activity against all strains. AH Plus and Intrafill presented antimicrobial activity against all strains except P aeruginosa and Roeko Seal wasn't effective against any microorganism.

Key Words: Root canal filling material; antimicrobial activity.

INTRODUCCIÓN

Los cementos obturadores presentan importancia fundamental en el éxito del tratamiento endodóntico, contribuyendo al sellado y previniendo la reinfección del sistema de conductos radiculares (1,2), además de auxiliar en el proceso de reparación de los tejidos apicales y periapicales.

Un material obturador ideal debe presentar buena compatibilidad tisular, estimular o permitir la deposición de tejido mineralizado a nivel apical y tener acción antimicrobiana. Así, la búsqueda de nuevos materiales obturadores de canales radiculares ha sido fundamentada en la comprobada acción antimicrobiana de los mismos sobre la microflora patogénica de los conductos radiculares, verificada por trabajos donde se han usado microorganismos anaeróbicos facultativos o estrictos, Gram-positivos y Gram-negativos (3,4).

Los cementos a base de óxido de zinc y eugenol presentan efecto antibacteriano comprobado en función de la presencia de eugenol libre que permanece hasta el endurecimiento final del cemento (5). Así, Fuss y col.(6) verificaron la actividad antibacteriana de un cemento a base de óxido de zinc y eugenol, el cemento Roth, con disminución de su actividad durante el período de análisis.

Los cementos a base de resina epóxica también presentan gran divulgación en la Endodoncia, mereciendo destaque el cemento AH Plus, derivado del AH26, con excelentes propiedades físico-químicas y biológicas⁷. La actividad antimicrobiana del cemento AH Plus fue demostrado por Leonardo y col.(4).

El cemento Sealer 26 es un material obturador a base de resina epóxica conteniendo hidróxido de calcio en su composición, demostrando buena capacidad selladora como material obturador de conductos radiculares⁸ y material retro-obturador (9).

El cemento Resilon (Resilon Research LLC, Madison, CT) es un material obturador a base de polímero sintético termoplástico, presentando propiedades semejantes a las de la gutapercha. Es utilizado en asociación con el cemento Epihaphany (Pentron Clinical Technologies, Wallingford, PT) que es un cemento a base de resina de polimerización dual. La colocación del cemento es precedida por la aplicación de un iniciador para favorecer la adhesión del material a las paredes del canal radicular. Shipper y col.(10) evaluaron los tejidos periapicales de dientes de perros obturados con gutapercha y AH 26 o por el Sistema Resilon/Epiphany. Los dientes fueron contaminados por la vía coronaria y los resultados demostraron menor intensidad de inflamación periapical para los dientes con obturaciones por el Sistema Resilon monoblock (en bloque único). Los autores atribuyen al Sistema, menor posibilidad de infiltración coronaria. No han sido referidos estudios de las propiedades antimicrobianas del Sistema Resilon/Epiphany.

El cemento a base de silicona con nombre comercial de Roeko Seal ha despertado el interés en función de sus buenas propiedades físico-químicas, como fluidez (11), bajos niveles de infiltración apical (12,13) y radiopacidad satisfactoria (14).

De esta forma, en función de la aparición de nuevas composiciones, en especial, cementos a base de resina o silicona, y de la inexistencia, hasta el momento, de trabajos científicos que demuestren su desempeño antimicrobiano, se justifica la realización de este trabajo, comparándolos con cementos de composiciones difundidas y estudiadas.

METODOLOGÍA

Los cementos endodónticos evaluados y sus procedencias constan en la Tabla 1. Los materiales fueron sometidos a la evaluación de la actividad antimicrobiana por la técnica de difusión en Agar usando el

método de pozo.

En la Tabla 2 están presentadas las cepas usadas para el estudio. Todas las cepas utilizadas fueron procedentes de la American Type Culture Collection (ATCC). Los inóculos fueron obtenidos por la siembra de las cepas indicadoras en caldo MHB (Mueller Hinton Broth - Difco), de acuerdo con las características fisiológicas e incubadas a 37°C por 24 horas.

Las pruebas por el método de pozo fueron realizadas por duplicado, en placas con doble capa, osea, con capa base y capa iniciadora o "seed" de medios adecuados. La capa base fue obtenida con 10ml de medio de cultivo esterilizado y congelado hasta cerca de -50°C en placas Petri de 20x100mm esterilizadas. Después de la solidificación fueron adicionados 5ml de capa "seed", obtenida por la adición de inóculo en la concentración final de 106 UFC/ml de medio de cultivo congelado hasta cerca de -50°C.

Después de la solidificación de la capa "seed", los pozos fueron confeccionados por la remoción de Agar, con varillas de vidrio de 4mm de diámetro esterilizadas, a partir de de 15mm de los bordes de las placas y en puntos equidistantes.

Los cementos fueron manipulados de acuerdo a las instrucciones de los fabricantes. Las placas fueron mantenidas a temperatura ambiente por dos horas, para pre-difusión del material, siendo después incubadas a 37°C por 24 horas.

La zona de inhibición formada alrededor del pozo fue medida con la ayuda de una regla milimetrada, estando las placas bien iluminadas y colocadas sobre fondo de color azul.

Tabla 1 – Procedencia de los cementos endodónticos utilizados en el estudio.	
Materiales	Fabricantes
Epiphany	Pentron Clinical Technologies, Wallingford, PT, USA
Roeko Seal	Roeko, Langenau, Germany
Sealer 26	Dentsply - Ind. e Com. Ltda. Petrópolis, RJ
AH Plus	Dentsply De Trey GmbH, Konstanz, Germany
Intrafill	S.S.White, Petrópolis, RJ

Tabla 2 – Cepas utilizadas como indicadores de la actividad antimicrobiana, procedencia y morfotipo.		
Microrganismos	Procedência	Morfotipo
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 9341	cg+
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	cg+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	bg-
<i>Candida albicans</i>	ATCC 1023	Le
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 10541	cg+

cg+: cocos gram-positivos; bg-: bacilos gram-negativos; le:levadura

Tabla 3 - Media de las zonas de inhibición (en milímetros).						
Microorganismos Materiales	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. Aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecalis</i>
Epiphany	21	15	10	10	19.5	14
Roeko Seal	0	0	0	0	0	0
Sealer 26	12	13	8	8	8	7
AH Plus	12	9	8	0	16.5	9
Intrafill	20	11	16	0	19	8

Media del duplicado

RESULTADOS

La Tabla 3 presenta las medias, en milímetros, de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos por el método de difusión.

Los resultados demostraron que el cemento Epiphany y el Sealer (26) presentaron actividad antimicrobiana sobre todas las cepas evaluadas. El cemento AH Plus y el Intrafill mostraron acción antimicrobiana sobre todos los microorganismos excepto *P. aeruginosa* y el cemento Roeko Seal, no fue efectivo sobre ningún microorganismo.

DISCUSIÓN

El método de difusión en Agar usado en este estudio es comunmente utilizado entre aquellos autores que evalúan actividad antimicrobiana (4,15-17) La falta de estandarización de estos factores puede ser considerada la principal causa de las diferencias entre resultados de muchos estudios comparativos sobre actividad antimicrobiana de materiales endodónticos¹⁸. Fueron utilizados microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y una levadura, predominantes en dientes con lesiones periapicales persistentes o refractarias (19,20).

Nuestros resultados revelaron que el cemento Sealer 26 y el Epiphany presentaron actividad antimicrobiana, con formación de zonas de inhibición de crecimiento de todas las cepas evaluadas. El período de pre-incubación que consiste en el mantenimiento del medio de cultivo inoculado por cerca de 2 horas en temperatura ambiente (4), fue un importante factor para evidenciar la actividad antimicrobiana de materiales que contienen hidróxido de calcio como el Epiphany y el Sealer (26), los cuales demostraron actividad antimicrobiana sobre todas las cepas de microorganismos evaluadas.

La actividad antimicrobiana de cementos con hidróxido de calcio u óxido de calcio en su composición como el Epiphany y el Sealer 26 puede ser asociada por su ionización, con liberación de iones hidroxilo y aumento del pH, tornando el ambiente desfavorable al crecimiento microbiano (4,21).

El cemento AH Plus y el Intrafill no fueron efectivos sobre *Pseudomonas aeruginosa*. El cemento AH Plus es un cemento a base de resina epóxica, el cual al contrario de su antecesor AH 26, no libera formaldehído⁷. Por tanto, su actividad antimicrobiana es probablemente resultante de otros componentes en su formulación. Según Mickel y col.²², evaluando la actividad antimicrobiana de varios cementos endodónticos sobre el *E. faecalis*, mostró que el AH Plus no presentó actividad sobre esta bacteria. Nuestros resultados revelaron acción antimicrobiana del AH plus sobre el *E. faecalis*, siendo el cemento Roeko seal ineficaz sobre esta bacteria.

Utilizando metodología semejante Sipert y col.⁽²³⁾ encontraron actividad antimicrobiana "*in vitro*" para los cementos Sealapex, Fill Canal, Pro Root MTA y Portland. El cemento Fill Canal, cuya composición es semejante al del cemento Intrafill, no demostró actividad antimicrobiana sobre *Pseudomonas aeruginosa*, coincidiendo con los resultados obtenidos en este estudio. La actividad antimicrobiana de este cemento

es atribuida a la presencia de eugenol.

Nuestros resultados revelaron que el cemento Roeko Seal, a base de silicona, no demostró efectividad sobre ninguna de las cepas evaluadas. Saleh y col.(24), evaluaron la sobrevivencia del *E. faecalis* en túbulos dentinarios infectados después de la obturación de los canales radiculares con diferentes cementos endodónticos. Los conductos obturados con gutapercha y AH Plus o Grossman presentaron mayor efectividad en la eliminación del *E. faecalis* que los obturados con Roeko Seal. Por otro lado, en cuanto a las propiedades biológicas, el cemento Roeko Seal ha demostrado baja citotoxicidad (25).

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos y la metodología empleada es posible concluir que:

1. El cemento Epiphany y el Sealer 26 presentaron actividad antimicrobiana sobre todas las cepas evaluadas.
2. El cemento AH Plus y el Intrafill presentaron acción antimicrobiana sobre todos los microorganismos estudiados excepto *P aeruginosa*.
3. El cemento a base de silicona Roeko Seal no presentó actividad antimicrobiana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Leonardo, M.R.; Leal JM. Materiais obturadores de canais radiculares. In: Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas; 2005. v. 2, p. 1062-145.
2. Nair, P.N.; Henry, S.; Cano, V.; Vera, J.: Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. (2005); 99: 231-52.
3. Siqueira, J.F.; Uzeda, M.: Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. J. Endod. (1997); 23: 167-69.
4. Leonardo, M.R.; Silva, L.A.B.; Tanomaru-Filho, M.; Cortes, K.C.; Ito, I.Y.: In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. J. Endod. (2000); 26: 391-4.
5. Geurtsen, W.; Leyhausen, G.: Biological aspects of root canal filling materials - histocompatibility, cytotoxicity, and mutagenicity. Clin. Oral Investig. (1997); 1: 5-11.
6. Fuss, Z.; Weiss, E.I.; Shalhav, M.: Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. Int. Endod. J. (1997); 30: 397-402.
7. Leonardo, M.R.; Silva, L.A.B.; Almeida W.; Utrilla, L.S.: Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer. Endod. Dent. Traumatol. (1999); 88: 221-5.
8. Siqueira, J.F.; Roças, IN.; Valois, C.R.: Apical sealing ability of five endodontic sealers. Austr. Endod. J. (2001); 27: 33-5.
9. Tanomaru-Filho, M.; Bramante, C.M.; Tanomaru, M.: Avaliação do selamento apical de obturações retrógradas realizadas com diferentes cimentos endodônticos. Rev. Bras. Odont.

- (1995); 52: 6-10.
10. Shipper, G.; Teixeira, F.B.; Arenold, R.R.; Trope, M.: Periapical inflammation after coronal microbial inoculation of dog roots filled with gutta-percha or Resilon. *J. Endod.* (2005); 31: 91- 6.
 11. Wu, M.K.; van der Sluis, L.W.; Wesselink, P.R.: A 1-year follow-up study on leakage of single cone fillings with Roeko RSA sealer. *Oral Surg Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* (2006); 101: 662-7.
 12. Wu, M.K.; Tigos, E.; Wesselink, P.R.: A 18-month longitudinal study on a new silicon-based sealer, RSA Roeko Seal: a leakage study in vitro. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* (2002); 94: 449-502.
 13. Cobanhara F.K.; Adanir, N.; Bell, S.; Pashley, D.H.: A quantitative evaluation of apical leakage of four root canal sealers. *Int. Endod. J.* (2002); 35: 979-84.
 14. Tanomaru-Filho, M.; Jorge, E.G.; Guerreiro-Tanomaru, J.M.; Gonçalves, M.: Radiopacity evaluation of new root canal filling materials by digitalization of images. *J. Endod.* (2007); 33: 249-51.
 15. Georgopoulou, M.; Kontakiotis, E.; Nakou, M.: In vitro evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root canal. *Endod. Dent. Traumatol.* (1993); 9: 249-53.
 16. Lui, J.N.; Sae-Lim, V.; Song, K.P.; Chen, N.N.: In vitro antimicrobial effect of chlorhexidine-impregnated gutta percha points on *Enterococcus faecalis*. *Int. Endod. J.* (2004); 37: 105-13.
 17. Tanomaru Filho, M.; Tanomaru, J.M.G.; Barros, D.B.; Watanabe, E.; Ito, I.Y.: In vitro antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. *J. Oral Sci.* (2007); 49: 41-5.
 18. Lenet, B.J.; Komorowski, R.; Wu, X.Y.; Huang, J.; Lawrence, H.P.; Friedman, S.: Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J. Endod.* (2000); 26: 652-5.
 19. Molander, A.; Reit, C.; Dahlen, G.; Kvist, T.: Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int. Endod. J.* (1998); 31: 1-7.
 20. Sundqvist, G.; Fidgor, D.; Persson, S.; Sjogren, U.: Microbiological analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* (1998); 85: 86-3.
 21. Silva, L.A.B.; Leonardo, M.R.; Silva, R.S.; Assed, S.; Guimarães, L.F.L.: Calcium hydroxide root canal sealers: evaluation of pH, calcium ion concentration and conductivity. *Int. Endod. J.* (1997); 30: 205-9.
 22. Mickel, A.K.; Nguyen, T.H.; Chogle, S.: Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. *J. Endod.* (2003); 29: 257-8.
 23. Sipert, C.R.; Hussne, R.P.; Nishiyama, C.K.; Torres, S.A.: In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. *Int. Endod. J.*

(2005); 38: 539-43.

24. Saleh, I.M.; Ruyter, I.E.; Haapasalo, M.P.; Ørstavik, D.: Adhesion of Endodontic Sealers: Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive Spectroscopy. *J. Endod.* (2003); 29: 595-601.
25. Oztan, M.D.; Yilmaz, S.; Kalavic, A.; Zaimoglu, L.: A comparison of the in vitro citotoxicity of two root canal sealers. *J. Oral Rehabil.* (2003); 30: 426-9.