



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Evaluación *invitro* de la actividad antimicrobiana del
NEOMTA® Y MTA (VIARDEN®)

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

ESPECIALISTA EN ODONTOPEDIATRÍA

P R E S E N T A:

TABATHA VANESSA CRUZ GONZÁLEZ

TUTOR: Esp. ROBERTO CARLOS MENDOZA TREJO

ASESOR: Dr. RAFAEL GARCÍA GONZÁLEZ

EVALUACION *INVITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL NEOMTA® Y MTA (VIARDEN®)

Tabatha Vanessa Cruz González*, Roberto Carlos Mendoza Trejo§, Rafael García González**

Resumen: La mayoría de la terapia endodóntica está dirigida a erradicar los microorganismos existentes y la prevención de infección o reinfección del canal radicular y tejido periapical. La presencia de especies bacterianas resistentes en los conductos radiculares crea la necesidad de probar nuevos medicamentos con un alto efecto antimicrobiano. **Objetivo.** El propósito de esta investigación fue evaluar la capacidad antimicrobiana del NeoMTA® y MTA de la casa comercial Viarden® en una cepa control de *Enterococcus faecalis* sobre un cultivo Müller-Hinton. **Materiales y Métodos:** Se realizaron 54 muestras en total éstas se acondicionaron en conformadores circulares de 9mm de diámetro x 1.5 mm de grosor, simulando la forma de un sensidisco para prueba de antibiograma, se realizó 27 muestras por cada biocerámicos (NeoMTA® y MTA®) las muestras principales se dividieron a su vez en tres grupos distintos (caja uno MTA Viarden®/NeoMTA®, caja dos y caja tres), colocando 3 tabletas por cada caja de Petri, por lo tanto se obtuvieron 9 muestras por cada frecuencia de medición 24,48 y 72 horas. La población para la prueba de antibiograma fue de tipo censal conformada por una cepa de *Enterococcus faecalis*, obtenida de American Type Culture Collection (ATCC) #25175 en medio de cultivo Müller-Hinton sobre las cuales se colocaron los sensidiscos de NeoMTA® y MTA Viarden®. Después de 24, 48 y 72 horas de incubación, cada caja fue examinada. Midiendo las zonas de inhibición resultantes **Resultados:** El NeoMTA® y MTA (Viarden®) tienen propiedades antimicrobianas favorables ante la cepa *Enterococcus faecalis*, el efecto antimicrobiano del NeoMTA® mostró superioridad comparado con el MTA (Viarden®), bajo las condiciones del diseño experimental.

Palabras clave: Actividad antimicrobiana, NeoMTA®, MTA®, *Enterococcus faecalis*.

Summary: Most endodontic therapy is aimed at eradicating the existing microorganisms and prevention of infection or reinfection of the root canal and periapical tissue. The presence of species resistant bacterial in the root canals creates the need of trying new medications with a high antimicrobial effect. **Objective:** The purpose of this investigation was to evaluate the antimicrobial capacity of the NeoMTA® and MTA of the commercial house Viarden in a *Enterococcus faecalis* control strain on a Müller-Hinton culture. **Materials and Methods:** A total of 54 samples were made conditioned in circular shapers of 9 mm diameter x 1.5mm thick, simulating the shape of a sensidisk for antibiogram proof, 27 samples were made for each bioceramic (NeoMTA® and MTA®) the main samples were divided into three different groups (box one MTA Viarden® / NeoMTA®, box two and box three), placing 3 tablets for each box of Petri, therefore 9 samples were obtained for each frequency measurement 24,48 and 72 hours. The population for the antibiogram test was of the census type conformed by a strain of *Enterococcus Faecalis*, obtained from American Type Culture Collection (ATCC) # 25175 in culture medium Müller-Hinton on which the NeoMTA sensidisks were placed and MTA Viarden. After 24, 48 and 72 hours of incubation, each box was examined measuring the resulting inhibition zones **Results:** NeoMTA® and MTA (Viarden®) have favorable antimicrobial properties against the *Enterococcus faecalis* strain, the antimicrobial effect of NeoMTA® showed superiority compared to MTA (Viarden®), under the conditions of the experimental design.

Keywords: Antimicrobial activity, NeoMTA®, MTA®, *Enterococcus faecalis*.

*Alumno de la especialidad de Odontopediatría, DEPeI de la FO UNAM.

§Profesor de la Especialidad de Odontopediatría, DEPeI de la FO UNAM.

**Jefe de coordinación de prácticas del laboratorio de Parasitología y Microbiología Facultad de Medicina

INTRODUCCIÓN

Los cambios que se han presentado a lo largo del tiempo en el ámbito de la odontología, no radican únicamente en el abordaje teórico, éstos han permeado el campo de la práctica. Se cuenta con un objeto de estudio, pero también con un sujeto de estudio que es el encargado de marcar las pautas de la actuación del especialista, su quehacer es la combinación de conocimiento, experiencia y trato con el otro. Los tratamientos dentales más comunes en la población están vinculados a infecciones endodónticas, estas se dividen en primarias y secundarias, en ambas la causa principal es el establecimiento y colonización de microorganismos. En las infecciones primarias las bacterias habituales son gram negativos a excepción de algunos bacilos anaerobios sin embargo en las infecciones persistentes la microbiota está compuesta principalmente por gram positivas entre ellas el *Enterococcus faecalis*.¹ Este juega un papel fundamental en los fracasos endodónticos, si bien la contaminación bacteriana es la principal causa, el *Enterococcus faecalis* es la bacteria responsable del 80 al 90%.²

La prevalencia de *Enterococcus faecalis* en infecciones endodónticas primarias es del 40% y en la infecciones endodónticas persistentes del 24 al 77% dado por su naturaleza multirresistente.³

A lo largo de los años, se han desarrollado diversos tipos de materiales dentales para servir a múltiples fines y aplicarlos a diversos escenarios en el campo de la odontología, por ello es necesario evaluar el efecto antimicrobiano de ciertos biocerámicos en este caso del MTA.

El Agregado Trióxido Mineral (MTA) fue descrito en la literatura científica dental por primera vez por Lee et al (1993), sin embargo hasta 1995 fue aplicado y patentado por Torabinejad & White. Posee la aprobación de la Administración Federal de Drogas.⁴

El material dental ideal debe satisfacer distintas propiedades físicas y químicas, el MTA se compone principalmente de silicato de tricalcio, aluminato de tricalcio, óxido de tricálcico y óxido de bismuto. Está formulado con finas partículas hidrófilas que se solidifican en presencia de humedad o sangre.

Es considerado un material bioactivo con una excelente capacidad biológica, tiene un valor de pH de 10.2 y aumenta a las 3 horas a 12.5, este microambiente resultante con alto pH contribuye a las propiedades antibacterianas particularmente atractivas del material, también posee resistencia a la flexión, adaptación marginal y sellado (mejorando en presencia de humedad, con un espesor de alrededor de 4 mm), baja o nula solubilidad (sin embargo, la mayor proporción de agua: polvo en la mezcla de puede aumentar su solubilidad y

porosidad), radiopaco (7,17 mm de espesor equivalente de aluminio).⁵

El concepto de odontología se ha transformado y junto con ella la evolución de materiales dentales, por tal motivo es imperioso caminar de manera paralela con este cambio, el MTA fue lanzado al mercado en el año de 1995, aunque este ya lleva algunos años una versión de MTA ha sido actualizado, el NeoMTA® se distingue por conservar todas las propiedades mejorando su composición química, es un material de aluminio silicato de calcio recién formulado que tiene un tiempo de fraguado más rápido, resistencia a los ácidos y evita la decoloración del diente.⁶

Esta investigación tuvo por objetivo evaluar la actividad antimicrobiana del NeoMTA® y MTA (Viarden®) contra *Enterococcus faecalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio se seleccionó dos cementos: NeoMTA® (Avalon, Biomed) y MTA (Viarden®).



Fig.1. Materiales empleados para probar la actividad antimicrobiana. Fuente propia.

La investigación se desarrolló mediante 3 fases:

Fase I:Elaboración de las muestras. Se realizaron 54 muestras en total éstas se acondicionaron en conformadores circulares de 9mm de diámetro x 1.5 mm de grosor, simulando la forma de un sensidisco para prueba de antibiograma, se realizaron 27 muestras por cada biocerámicos (NeoMTA® y MTA®) las muestras principales se dividieron a su vez en tres grupos distintos (caja uno MTA Viarden®/NeoMTA®, caja dos y caja tres), colocando 3 tabletas por cada caja de Petri, por lo tanto se obtuvieron 9 muestras por cada frecuencia de medición 24,48 y 72 horas.

Dentro de un campo estéril, se desinfectaron con alcohol las espátulas tipo tamo usadas, así como los conformadores de muestras.

Se realizó la mezcla de acuerdo con las instrucciones del fabricante y mediante el mismo operador previamente entrenado, se utilizaron 1 cucharada (0,1 g) de polvo NeoMTA® sobre una loseta de vidrio se mezcló el gel en el polvo 1:1 hasta obtener la consistencia de masilla.

Se hizo lo mismo con MTA (Viarden®) colocando agua bidestilada 1:3 con respecto al polvo sobre una loseta de vidrio estéril se revolvió hasta formar una pasta de consistencia cremosa.

Las mezclas se llevaron al conformador, apoyado en una platina metálica cuadrangular de aproximadamente 19 x 22 mm con 5 mm de grosor, para

impedir el desbordamiento del cemento y encima se colocó otra platina metálica con las mismas dimensiones para conformar la muestra. Para su esterilización se secaron y se colocaron en cajas de Petri estériles, en luz UV por 30 minutos de cada lado.

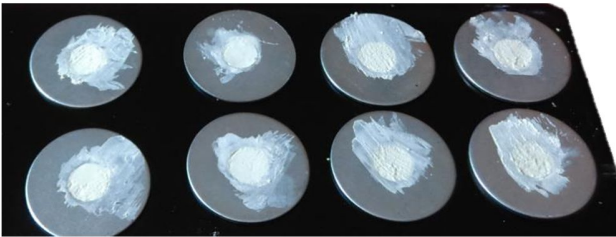


Fig. 2. Elaboración de los sensibilizadores con el material aprobado. Fuente propia.

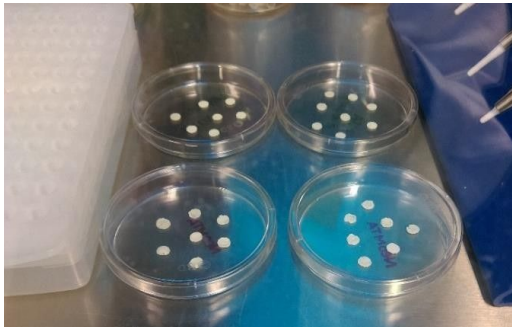


Fig. 3. Esterilización de muestras en cámara de luz ultravioleta. Fuente propia.

Fase II: Preparación del inoculo: Se sembró *Enterococcus faecalis* a partir de una cepa control, obtenida de American Type Culture Collection (ATCC) #25175. La siembra se realizó en estrías abiertas con una asa bacteriológica para lograr el aislamiento y su posterior caracterización de la morfología de la colonial de la cepa. La caja con el medio de cultivo ya sembrado fue incubada en microaerófilo en una jarra de Gaspak a 37 grados centígrados durante 48 horas paralelamente se sembró en caldo de soya tripticasa, las condiciones de la incubación fueron semejantes a la anterior. Para adecuar la densidad del inoculo a emplear, se utilizó un patrón

de turbidez estándar de 0.5 de McFarland, que se preparó anteriormente con 0.5 ml de una solución de cloruro de bario acuosa al 1% y 9.5 ml de una solución de ácido sulfúrico acuoso al 1%. Se vertido una porción en un tubo sellado y se mantuvo en constante movimiento hasta mantenerlo en suspensión, a una absorbancia de 625 nm entre 0.8 y 0.10 verificado en el espectrofotómetro; el cual anteriormente fue calibrado a cero con solución salina isotónica. A partir de las cajas de agar base sangre, se recolectaron varias colonias para depositarlas en una celdilla que contenía solución salina isotónica para lograr igualar 0.5 de McFarland y obtenido una suspensión del inoculo de 1 a 2 x10⁸ Unidades Formadoras de Colonias por ml (UFC/ml). De acuerdo a la técnica de Kirby Bauer, el microorganismo fue inoculado en cajas de Petri de 100x15 mm que contenían 4 mm de espesor de Mueller-Hinton (MH) agar (medio de cultivo ideal para antibiograma) manteniendo un ambiente estéril entre las flamas y los dos mecheros.



Fig. 4. Zona estéril para la preparación del medio de cultivo Mueller-Hinton (MH). Fuente propia.

A partir de la obtención del inóculo contenido en un tubo con la boquilla sellado (con un tapón de gasa estéril para que no se contaminará), este se destapaba y se flameaba la boquilla y con un hisopo estéril se recolecto parte del mismo, eliminando el exceso frotándolo firmemente contra la pared interna del tubo. La boquilla del tubo se volvió a flamear y se selló nuevamente. Posteriormente, se empleó una caja de Petri con MH en la que se sembró el inóculo, frotando el hisopo firmemente sobre la superficie del agar, la caja se dividido en dos partes para la siembra a estría cerrada, comenzando del centro para cubrir la mitad hacia arriba y finalizando con la mitad restante, las cajas de Petri se colocaron con la tapa hacia abajo y se esperaron 5 minutos aproximadamente, para permitir el secado del inóculo.

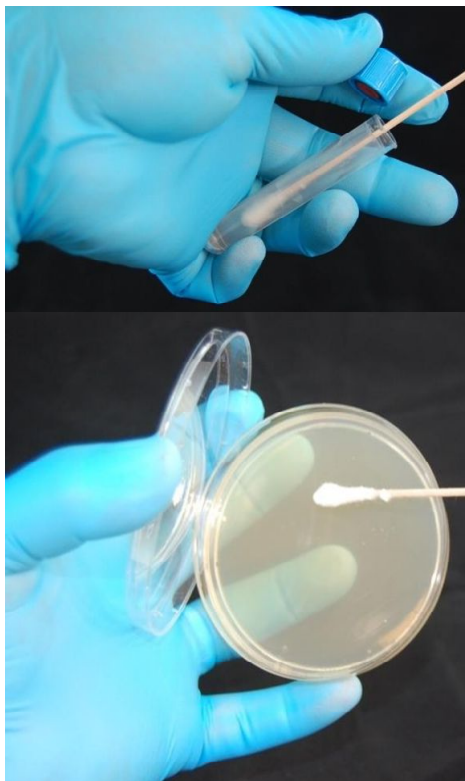


Fig.5. Siembra del inóculo en estría cerrada. Fuente propia.

Luego del secado se colocó tres muestra por caja de Petri, oprimiéndola suavemente con la pinzas para asegurar un buen contacto con el medio de cultivo, colocando las cajas de Petri con la tapa hacia arriba se esperaron 5 minutos más para permitir un mejor contacto de las muestras con el medio de cultivo.

Posteriormente, las cajas de Petri se colocaron nuevamente con la tapa hacia abajo y se aplicaron para colocarlas en una jarra de Gaspak para su incubación microaerofilia a 37 grados centígrados. Es importante mencionar que las muestras se colocaron 15 días después de su elaboración y esterilización.

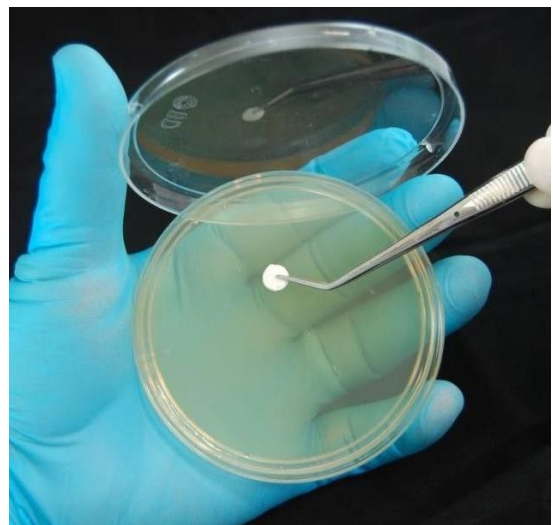


Fig.6. Colocación de las tabletas sobre el medio de cultivo. Fuente propia

Fase III: Prueba de antibiograma (lectura e interpretación de los resultados).

Después de 24,48 y 72 horas de incubación, cada caja fue examinada. Los diámetros de la zona de inhibición completa, fueron medidos con un vernier, pasando por el centro del disco.

RESULTADOS

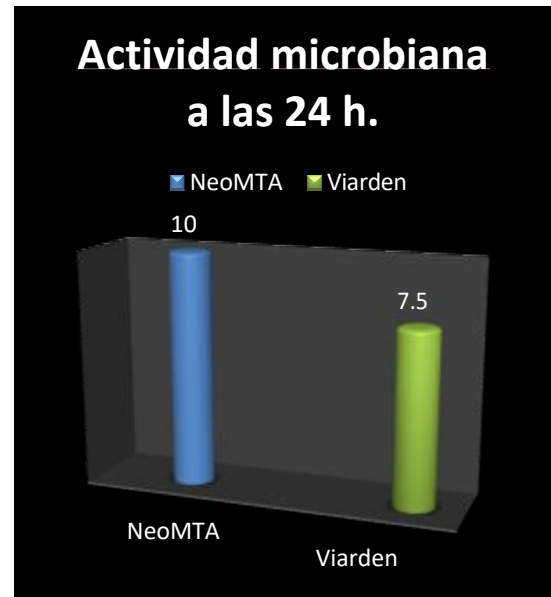
Se realizó la elaboración de las muestras y la preparación del inocuo de acuerdo al método determinado en las 54 muestras.

El análisis estadístico descriptivo de los datos nos mostró la efectividad microbiana contra *Enterococcus faecalis* utilizando dos biocerámicos NeoMTA® y MTA (Viarden®).

Los datos obtenidos de la determinación de la zona de inhibición resultantes fueron organizadas en una hoja de cálculo (excel, Microsoft,USA).

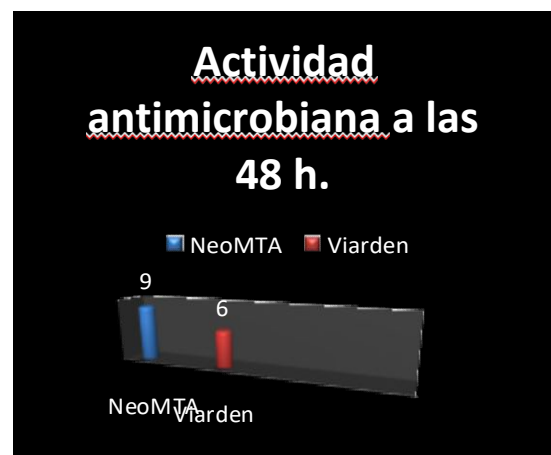
Por cada frecuencia de medición se obtuvieron 9 resultados por cada hora (24, 48 y 72).

En la gráfica 1 se presentan los resultados obtenidos de la medición del triplicado de muestras para ambos grupos a las 24 horas, se concluye que a las 24 horas el NeoMTA® presenta mayor capacidad antimicrobiana que el MTA de la casa comercial Viarden® por 2.5 mm.



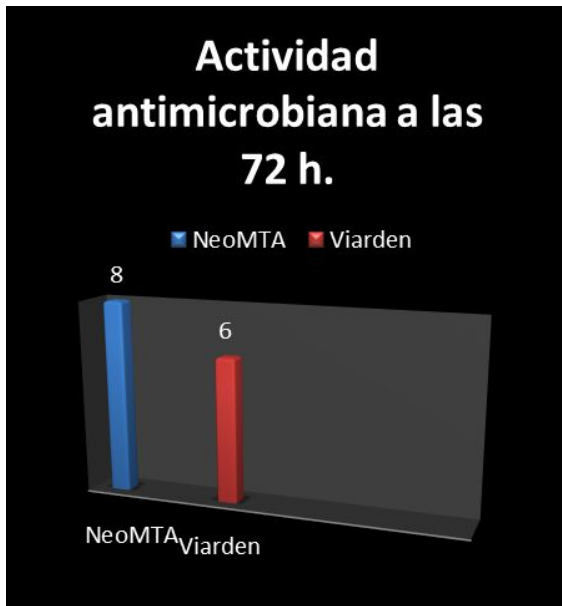
Gráfica 1. Frecuencia de la actividad antimicrobiana por grupo a las 24 horas.

En la gráfica 2 están esquematizados los resultados de las 9 muestras por grupo a las 48 horas, ambos grupos muestran un descenso en la capacidad antimicrobiana comparada con la medición a las 24 horas, el NeoMTA® sigue mostrando superioridad con respecto al MTA de Viarden®.



Gráfica 2. Frecuencia de la actividad antimicrobiana por grupo a las 48 horas.

En la gráfica 3 se muestra la actividad antimicrobiana de ambos cementos a las 72 horas, existe un descenso en la capacidad antimicrobiana en el grupo del NeoMTA®, mientras que el grupo de Viarden® conserva la misma medición.



Gráfica 3. Frecuencia de la actividad antimicrobiana por grupo a las 72 horas.

El procesamiento de los datos permitió obtener el promedio de la actividad antimicrobiana. El análisis de las gráficas nos permite vislumbrar que ambos materiales biocerámicos presentan una actividad microbiana favorable ante *Enterococcus faecalis*, teniendo un promedio de 9 mm para NeoMTA® y 6 mm para MTA (Viarden®).

DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad antimicrobiana del NeoMTA® y MTA (Viarden®) utilizando una cepa control de *Enterococcus faecalis* en un estudio *In-Vitro*.

La incidencia de *Enterococcus Faecalis* en infecciones endodónticas está relacionado de manera estrecha debido a su alta virulencia, su capacidad de sobrevivir en medios con poco o escasos nutrientes, esta bacteria anaerobia persistente también posee la capacidad de formar biopelícula adhiriéndose al colágeno de la dentina, penetrando los túbulos dentinarios hasta llegar a los conductos radiculares, debido a esta necesidad se ha creado una nueva generación de materiales dentales con mejores propiedades físicas, químicas y biológicas a fin de encontrar el material ideal que selle efectivamente el camino que comunica el sistema de conductos radiculares y la superficie externa del diente, con la habilidad de ser bacteriostáticos o por lo menos de inhibir el crecimiento bacteriano.²

El estudio *in vitro* se realizó de acuerdo a los métodos de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución de agar avalado por The clinical and Laboratory Standars Institute. (El caldo M.Hinton es el medio recomendado para las pruebas de sensibilidad de patógenos facultativos de crecimiento rápido).⁷

Se complementó la evaluación antibiótica por el Método Kirby-Bauer, inoculando el patógeno, determinando la identidad de este y por último estableciendo la sensibilidad que tiene en ambos biocerámicos utilizados (NeoMTA® y MTA (Viarden®)).

El Método Kirby-Bauer es el estándar recomendado por la U.S Food and Drug Administration y el Subcomite en Suceptibilidad Antimicrobiana Nacional este método prueba la eficiencia de un antibiótico por las zonas de inhibición que esté presente, la facilidad de la difusión del antibiótico a través del agar, y el medio que se utiliza.

Se define agente antimicrobiano como cualquier sustancia que inhibe o mata el crecimiento bacteriano.

Muchos estudios *invitro* se han realizado poniendo a prueba las propiedades biológicas del MTA contra *Enterococcus faecalis*, Torabinejada en su estudio Efectos antibacterianos de algunos materiales de obturación radicular ⁷ concluye que el agregado de trióxido mineral tuvo efectos inhibitorios contra algunas bacterias facultativas pero no tuvo efecto alguno en bacterias anaerobias facultativas incluyendo *Enterococcus faecalis*, este estudio contradice nuestros hallazgos ya que nosotros si determinamos actividad antimicrobiana en ambos grupos en todas las mediciones que se realizaron. Si bien las diferencias de los resultados obtenidos pueden modificarse dependiendo de múltiples variables como la tensión del oxígeno, el período

de incubación o el método de evaluación de los diferentes set ups para la ejecución en el laboratorio.

Los efectos de la actividad antimicrobiana del MTA contra bacterias facultativas se deben a su elevado pH después de ser mezclado el MTA tiene un valor de pH de 10.2 y aumenta a las 3 horas a 12.5

Este microambiente resultante contribuye a las propiedades antibacterianas particularmente atractivas del material.⁵

Está documentado que los niveles de pH de 12 son capaces de inhibir la formación bacteriana incluyendo bacterias resistentes como *Enterococcus faecalis*.⁹

Morgental R, en su estudio Antibacterial activity of two MTA based root canal sealers llegaron a la conclusión que MTA Filiapex y Endofill tuvieron efectos de inhibición contra *Enterococcus faecalis*, pero no mantenía esta propiedad después de 7 días de su mezcla, es importante señalar que las tabletas de MTA que fueron colocadas en forma de sensidisco sobre el agar se colocaron después de 15 días y mantenían la actividad antibacteriana.⁸

Mohammad en su estudio Comparative evaluation of antimicrobial activity of three cements: new endodontic cements (NEC) mineral trioxide aggregate (MTA) and Portland muestran nula efectividad contra *Enterococcus faecalis*, es importante recalcar que el estudio se desarrolló con diferentes concentraciones de MTA, en nuestro estudio las concentraciones de MTA

fueron elaboradas 100% basándonos en las instrucciones del fabricante.⁹

Los estudios realizados por Razmin demuestran que MTA y NEC tienen propiedades antibacterianas óptimas ante *Enterococcus faecalis*.¹⁰

CONCLUSIONES

Conforme a los resultados obtenidos, se concluye que:

- El NeoMTA® y el MTA (Viarden®) presentan propiedades antimicrobianas después de 15 días de su elaboración, esterilización en cámara de luz ultra violeta hasta su implantación en forma de sensidisco sobre el medio de cultivo.
- El efecto antimicrobiano del NeoMTA® mostro superioridad comparado con el MTA (Viarden®), bajo las condiciones del diseño experimental. Teniendo un promedio de 9 mm comparado con 6 mm para MTA (Viarden®).
- El efecto antimicrobiano de ambos biocerámicos mostro una reducción en cada frecuencia de medición (24, 48 y 72 horas).
- La manipulación para la elaboración de muestras del MTA (Viarden®) fue mucho más sencilla que el NeoMTA®.
- El uso de MTA (Viarden®) para el tratamiento endodóntico genera mayores beneficios en

cuanto a costo y manipulación, ya que el efecto antimicrobiano comparado con el NeoMTA® es reducido.

Debido a la respuesta biológica positiva del MTA los biocerámicos son una buena opción para generar una respuesta positiva de inhibición sobre bacterias que se encuentran presentes en el sistema radicular, en nuestro estudio ambos biocerámicos presentan una respuesta favorable de actividad antimicrobiana debido principalmente al elevado pH que este genera, si bien se sabe que el MTA contiene componentes solubles que recién mezclado y fraguados tiene la habilidad de solubilizar proteínas de matriz de dentina creando una respuesta celular, considero que es necesario para futuras investigaciones evaluar de manera inmediata la actividad antimicrobiana que esta genera,

Con base en los resultados obtenidos, el NeoMTA® y MTA (Viarden®) tienen propiedades antimicrobianas, el NeoMTA® muestra una diferencia mínima ante el MTA Viarden® es importante hacer hincapié que el diseño experimental que se eligió para la siguiente investigación fue in-vitro, por tal motivo, estos biocerámicos pueden mostrar resultados distintos en un escenario clínico, en un ambiente oral la saliva genera cambios en el pH modificando las propiedades antimicrobianas que se evaluaron.

REFERENCIAS

1. Lozano LSMS. Efecto inhibitorio in vitro del cemento Portland y del MTA sobre cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Peru; 2016.
2. Rocha DGDR. Evaluación de la actividad antimicrobiana de cementos biocerámicos frente al *Enterococcus faecalis*. Cartagena; 2016.
3. HEGDE V. *Enterococcus faecalis*; clinical significance & treatment considerations. ENDODONTOLOGY. 2010;: p. 48-54.
4. Khan J El Housseiny A AN. Mineral Trioxide Aggregate Use in Pediatric Dentistry: A Literature Review. J.Oral Hyg Health. 2016;: p. 209.
5. Siboni F, Taddei P, Prati C, Gandolfi M. Properties of NeoMTA Plus and MTA Plus cements for endodontics. Int. End.J. 2017;50:e83-e94.
6. Standards I.C. (2012) MIC testing. Servicios Antimicrobianos
7. Torabinejad M, Hong C, Ford T, Kettering J. Antibacterial effects of some root end filling materials. Journal of Endodontics. 1995;21(8):403-406.
8. Morgental R, Vier-Pelisser F, Oliveira S, Antunes F, Cogo D, Kopper P. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. Int. End J 2011;44(12):1128-1133.
9. Zarrabi MH. Comparative evaluation of antimicrobial activity of three cements: new endodontic cements (NEC) mineral trioxide aggregate (MTA) and Portland. Journal of Oral Science. 2009;: p. 437-442.
10. Razmin A. Calcium Enriched Mixture and Mineral Trioxide Aggregate Activities against *Enterococcus Faecalis* in presence of Dentine. Journal Iran Endodontics. 2013;: p. 191-6.