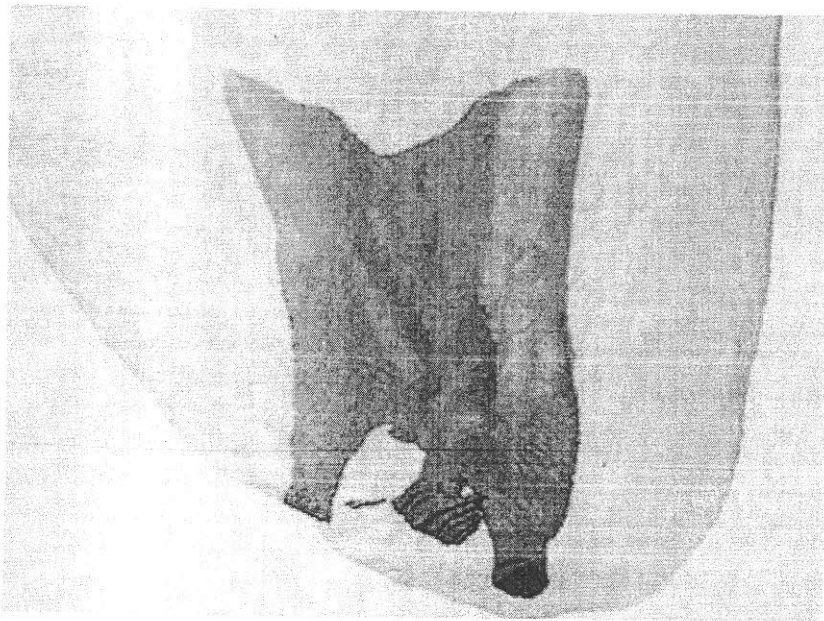


Canal abierto

Revista de la Sociedad de Endodoncia de Chile



Nº 30 Octubre 2014

Actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina en aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*

Antimicrobial activity of *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate on clinical isolates of *Enterococcus faecalis*



Hernán Mijail Percca M.¹



Marco Tulio Palomino M.²



Roky Giovanni Champi M.³

¹ Cirujano-Dentista, Universidad Inca Garcilaso de la Vega (UIGV).

² Cirujano-Dentista, Universidad Nacional Federico Villareal (UNFV), Odontólogo Asistente, Servicio de Endodoncia, Departamento de Odontoestomatología, Hospital Nacional Hipólito Unanue, Lima, Perú.

³ Licenciado en Tecnología Médica - Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM)

Tecnólogo Médico, Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular, Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, Hospital Nacional Hipólito Unanue, Lima, Perú.

RESUMEN

Objetivo: El presente estudio fue realizado para determinar la actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina en aislamientos de *Enterococcus faecalis* de infecciones endodónticas primarias. **Materiales y Métodos:** A partir de 41 muestras de pacientes con infecciones endodónticas primarias, que fueron atendidos en el Servicio de Endodoncia del Departamento de Odontoestomatología del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo Agosto a Octubre del año 2012, se aislaron 14 (34,14%) cepas de *Enterococcus faecalis*. Para la elaboración del extracto de *Allium sativum*, se utilizó un cultivar de ajo peruano (ajo morado arequipeño). Se determinó la concentración mínima inhibitoria del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina por el método de macrodilución en caldo; luego, se determinó la concentración mínima bactericida mediante subcultivación en agar. Para el análisis de los datos se utilizó la prueba t de Student para muestras

relacionadas. **Resultados:** En los aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*, se observó que los valores de la concentración mínima inhibitoria del extracto el extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina se encontraban entre 2 343,75 $\mu\text{g/ml}$ hasta 9 375 $\mu\text{g/ml}$ y 2,5 $\mu\text{g/ml}$ hasta 5 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente; además, se determinó que no existe diferencia entre la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida para el extracto de *Allium sativum*; sin embargo, si existe una diferencia significativa ($p=0.029$) entre estos valores para el digluconato clorhexidina. **Conclusión:** El extracto de *Allium sativum* y el digluconato de clorhexidina presentan actividad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*.

Palabras clave: Infección endodóntica primaria, *Enterococcus faecalis*, clorhexidina, *Allium sativum*, concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida

Correspondencia

Hernán Mijail Percca M. Jr.

Los Jaspes #2227, Coop. La Huayrina, San Juan de Lunigancho, Lima 31, Perú

e-mail: hm_perccamj@outlook.com Teléfono: 993671590/2862680

ABSTRACT

Aim: antimicrobial activity of *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate in isolates of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections. **Materials and Methods:** Starting from 41 samples from patients with primary endodontic infections which were treated at Servicio de Endodoncia del Departamento de Odontostomatología del Hospital Nacional Hipólito Unanue during the period from August to October 2012, strains of *Enterococcus faecalis* were isolated from 14. To prepare the *Allium sativum* extract with the antimicrobial agent, it was used a Peruvian type of *Allium sativum* (ajo morado arequipeño). The minimum inhibitory concentration of *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate was determined by macrodilution method, and then the minimum bactericidal concentration was determined by subcultivation on agar. Student *t* test was used for statistical analysis. **Results:** For

clinical isolates of *Enterococcus faecalis*, it was observed that the minimum inhibitory concentration values for the *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate were among 10 and 100 respectively, in addition, it was determined that there is no significant difference between minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration for the *Allium sativum* extract, however, there is a significant difference between these values for CHX ($p=0.029$). **Conclusion:** *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate have got antimicrobial activity in clinical isolates of *Enterococcus faecalis*.

Keywords: Primary endodontic infection, *Enterococcus faecalis*, chlorhexidine, *Allium sativum*, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son la principal causa de enfermedades pulpares y periapicales.¹ Por eso, uno de los principales objetivos de la terapia endodóntica es la reducción de la carga bacteriana, que promoverá el proceso curativo normal de los tejidos periodontales.²

Enterococcus faecalis, coco gram-positivo anaerobio facultativo, ha sido considerada una de las especies más resistentes en la cavidad oral y una posible causa de la enfermedad post-tratamiento endodóntico.³ En las infecciones endodónticas primarias, que son usualmente polimicrobianas,⁴ se pueden aislar cepas de *E. faecalis*, dependiendo del método utilizado.⁵ Numerosas investigaciones han sido dirigidas para encontrar maneras efectivas para erradicar o prevenir que *E. faecalis* tenga acceso al sistema de conductos radiculares. Los estudios sobre las soluciones desinfectantes a base de hipoclorito de sodio, ácido cítrico, hidróxido de calcio, sales de yodo, clorhexidina, MTAD (Mixtura de isómero de tetraciclina, un ácido y un detergente), agua ozonizada y fluoruro estañoso han demostrado ser efectivas contra *E. faecalis*.⁶

El digluconato de clorhexidina (CHX) es un potente antiséptico, sin embargo, no puede ser usado como un irrigante principal en el tratamiento endodóntico

convencional porque es incapaz de disolver tejido necrótico remanente y es más efectiva frente a cocos gram-positivos y menos activa frente a bacilos gram-positivos y gram-negativos.⁷ Además, los estudios sugieren que CHX es altamente citotóxico *in vitro*, por lo que se debería tener cuidado en su administración durante procedimientos quirúrgicos orales.⁸

El *Allium sativum* (Ajo) ha sido conocido por tener propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antivirales. El principal componente del ajo, la alicina, es generado por la enzima alinasa cuando el ajo es molido.⁹ El extracto de *Allium sativum* presenta actividad antimicrobiana frente a especies bacterianas orales, particularmente especies gram-negativas,¹⁰ y frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina.¹¹ Sin embargo, no se ha estudiado la actividad antimicrobiana de un extracto de *Allium sativum* frente a aislamientos clínicos de *E. faecalis* en nuestro medio.

El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina en aislamientos clínicos de *E. faecalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

Fueron incluidos en el estudio 41 pacientes atendidos en el Servicio de Endodoncia del Departamento de Odontostomatología del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo Agosto a Octubre del año 2012. Todos los procedimientos clínicos fueron revisados y aprobados por el Comité Institucional de Ética en Investigación del Hospital Nacional Hipólito Unanue. No fueron incluidos los pacientes que no podían tolerar el uso de aislamiento absoluto, que habían recibido terapia antibiótica 3 meses previos al tratamiento o que padecían de patologías sistémicas o de condiciones médicas, que podían influir en el estado periodontal. Las piezas dentarias de los pacientes seleccionados debieron presentar evidencia radiográfica asociada a una lesión radiolúcida periapical, adecuado tamaño coronal para el aislamiento absoluto y no haber recibido tratamiento endodóntico previo.

Protocolo Clínico y Recolección de Muestras

Las piezas dentarias fueron pulidas con piedra pómez y luego, sometidas a aislamiento absoluto. Las superficies dentarias, diques de goma, clamps y eugenato de zinc fueron desinfectados mediante lavado con peróxido de hidrógeno al 30% hasta que no se observó burbujeo evidente. Luego, hipoclorito de sodio al 2,5% fue aplicado por 1 minuto. Finalmente, se utilizó una solución estéril de tiosulfato de sodio al 5% para inactivar residuos de hipoclorito de sodio. Los procedimientos de desinfección fueron repetidos después de la preparación de la cavidad de acceso usando fresas diamantadas en una pieza de mano de alta velocidad.¹² La longitud de los conductos radiculares fue determinada radiográficamente usando una K-file #20. Para la obtención de la muestra, se colocó una punta de papel estéril a lo largo del conducto radicular por 1 minuto. En piezas monorradiculares, este procedimiento se realizó 2 veces, porque los conductos son más anchos. Una vez retirada del conducto, la punta de papel fue introducida inmediatamente en el medio de transporte AMIES, que es un agar gel sin carbón (COPAN Venturi Transystem®) para ser enviado al laboratorio de Microbiología del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica de Hospital Nacional Hipólito Unanue.

Aislamiento Bacteriano y Condiciones de Conservación

Se utilizó como control una cepa de *E. faecalis* ATCC® 29212. Las muestras clínicas se cultivaron en agar sangre

de carnero, agar azida bilis esculina, agar McConkey, agar manitol salado y caldo tioglicolato. Estos medios fueron incubados a 35±2 °C por 24 horas. A las muestras que presentaron colonias sugestivas de *E. faecalis*, se les realizó la coloración Gram e identificación bioquímica. Los aislamientos clínicos de *E. faecalis* fueron conservados en caldo tripticasa de soya con glicerol al 20% v/v y en mantenidos en congelación a -20 °C.

Extracto de *Allium sativum*

100gr de bulbos de ajo morado arequipeño frescos fueron pelados y procesados en un extractor de jugos (OSTER® Express model 333-88), que fue desinfectado previamente con una solución de digluconato de clorhexidina al 1,5% (ROKER® SAFE BLON-H). Se obtuvieron 30 ml de extracto de *Allium sativum*. El extracto fue alicuotado en contenedores estériles y en congelación -20 °C hasta ser requeridas.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Los aislamientos clínicos de *E. faecalis*, que estaban conservados en congelación, fueron sembrados en agar sangre de carnero 24 horas antes de la prueba de sensibilidad. La concentración de los inóculos fue ajustada a 1×10⁶ UFC/ml. La concentración inicial del extracto de *Allium sativum* fue 30 000 µg/ml. Los agentes antimicrobianos fueron diluidos desde 1:2 hasta 1:512. Los tubos de ensayo N°2 al N°12 recibieron 1 ml de caldo Mueller-Hinton cada uno. Luego, Los tubos de ensayo N°1 y N°2 recibieron 1 ml del extracto de *Allium sativum*. El tubo de ensayo N°2 se mezcló cuidadosamente con un vortex mixer. Después, 1 ml del contenido del tubo de ensayo N°2 fue adicionado al tubo de ensayo N°3 y mezclado cuidadosamente con el vortex mixer (SA7 Stuart). Este proceso fue realizado sucesivamente hasta el tubo de ensayo N°10, de donde se descartó 1ml del contenido final. El mismo procedimiento fue realizado para CHX (MAQUIRA INDÚSTRIA DE PRODUTOS ODONTOLÓGICOS LTDA, Maringá, Paraná, Brasil), cuya concentración inicial fue 20 000 µg/ml. Para determinar la CMI se ajustó la concentración de CHX a 320 µg/ml. Finalmente, 1ml de inóculo de un aislamiento clínico de *E. faecalis* fue adicionado a los tubos de ensayo 1 al 11. La serie de tubos de ensayo fueron incubados a 35±2 °C por 16 a 20 horas. La CMI se definió a simple vista por la falta de turbidez del caldo, para ello se comparó cada tubo con el tubo de ensayo N°11, que fue el control de crecimiento. El tubo de ensayo N°12 fue el control de esterilidad.¹³

