

ARTÍCULO ORIGINAL

Actividad antimicrobiana in vitro de la pasta triantibiótica, según el momento de la aplicación y el almacenamiento

In vitro antimicrobial activity of the triantibiotic paste, according to the time of application and storage

Carla Román Inoñan¹ , Victor Chumpitaz Cerrate^{2,3} , Lesly Chávez Rimache² , Cesar Franco Quino² , Carlos Erazo Paredes² 

RESUMEN

Introducción: La medicación intracanal con antibióticos se utiliza para asegurar el éxito de los tratamientos. Sin embargo, no se han reportado estudios que evalúen la eficacia de la pasta triantibiótica después de varias horas de preparación.

Objetivo: Evaluar la actividad antimicrobiana de la pasta triantibiótica frente al *Enterococcus faecalis*, según el tiempo de aplicación y de almacenamiento de los componentes utilizados para su preparación.

Métodos: Estudio experimental in vitro, realizado en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La muestra consistió en tres colonias de *Enterococcus faecalis*, formadas en agar bilis-esculina. En tres días específicos (0, 14 y 28) se evaluó la actividad antimicrobiana de la pasta convencional (ciprofloxacina/metronidazol/minociclina) y modificada (cefaclor/metronidazol/minociclina), midiendo las zonas de inhibición (mm). Los componentes recién obtenidos se utilizaron para preparar la pasta el día 0, y los componentes almacenados (antibióticos pulverizados conservados en frascos de vidrio color ámbar a temperatura ambiente) se utilizaron los días 14 y 28. Se realizaron dos intervenciones en cada día específico (mañana y tarde). Las pastas recién preparadas se utilizaron por la mañana (aplicación inmediata), mientras que por la tarde se utilizaron las pastas almacenadas durante 6 horas (aplicación tardía).

Resultados: El día 0, se encontró que la pasta triantibiótica modificada de aplicación inmediata presentó una actividad antimicrobiana superior a la de aplicación tardía ($p = 0,046$). El día 28, la pasta triantibiótica convencional de aplicación inmediata presentó una actividad antimicrobiana superior a la de aplicación tardía ($p = 0,049$). La pasta preparada con componentes recién obtenidos (día 0) tuvo una mayor actividad antimicrobiana que la pasta preparada con componentes almacenados durante 14 y 28 días.

Conclusiones: El tiempo de aplicación de la pasta triantibiótica y los tiempos de almacenamiento de los componentes podrían influir en la actividad antimicrobiana para la erradicación de *Enterococcus faecalis*.

Palabras clave: pasta triantibiótica; actividad antimicrobiana; *Enterococcus faecalis*.

ABSTRACT

Introduction: Intracanal medication with antibiotics is used to ensure the success of treatments. However, no studies evaluating the efficacy of triantibiotic paste after several hours of preparation have been reported.

Objective: To evaluate the antimicrobial activity of the triantibiotic paste against *Enterococcus faecalis*, according to the time of application and storage of the components used for its preparation.

Methods: An experimental in vitro study was carried out in the microbiology laboratory of Universidad Nacional Mayor de San Marcos. The sample consisted of three colonies of *Enterococcus faecalis*, formed in bile-esculin agar. On three specific days (0, 14 and 28), the antimicrobial activity of the conventional (ciprofloxacin/metronidazole/minocycline) and modified (cefaclor/metronidazole/minocycline) paste was evaluated, measuring (mm) the inhibition zones. The freshly obtained components were used to prepare the paste on day 0, and the stored components (powdered antibiotics kept in amber glass bottles at room temperature) were used on days 14 and 28. Two interventions were performed on each specific day (morning and afternoon). Freshly prepared pastes were used in the morning (immediate application), while pastes stored for 6 hours (delayed application) were used in the afternoon.

Results: On day 0, it was found that the modified triantibiotic paste of immediate application had higher antimicrobial activity than the one of delayed application ($p = 0.046$). On day 28, the conventional triantibiotic paste for immediate application showed higher antimicrobial activity than that for delayed application ($p = 0.049$). Pasta prepared with fresh components (day 0) had higher antimicrobial activity than pasta prepared with components stored for 14 and 28 days.

Conclusions: The application time of the triantibiotic paste and the storage times of the components could influence the antimicrobial activity for the eradication of *Enterococcus faecalis*.

Key words: triantibiotic paste; antimicrobial activity; *Enterococcus faecalis*.

Recibido: 27/01/2022
Aceptado: 03/04/2022

¹Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología. Lima, Perú.
²Grupo de Investigación en Ciencias Básicas Estomatológicas (ICBEST), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
³Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.



Este es un artículo en Acceso Abierto distribuido según los términos de la [Licencia Creative Commons Atribución- No Comercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) que permite el uso, distribución y reproducción no comerciales y sin restricciones en cualquier medio, siempre que sea debidamente citada la fuente primaria de publicación. <http://www.revstomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/4235>

INTRODUCCIÓN

Los fracasos en el tratamiento de endodoncia se deben a diferentes factores como la persistencia de bacterias, conductos radiculares con deficiente limpieza, sellados inadecuados (subobturación o sobreobturación) y conductos radiculares no tratados. Sin embargo, la principal razón del fracaso es la persistencia de algunas especies bacterianas en los conductos radiculares como el *Enterococcus faecalis*. Esta bacteria se ha relacionado frecuentemente con los fracasos endodónticos, debido a que resiste el aumento de pH producido por el hidróxido de calcio (medicamento intraconducto más utilizado en endodoncia).^(1,2,3,4) Adicionalmente, el *E. faecalis* puede formar su propio biofilm en la dentina del conducto y disolver la fracción mineral de la dentina, siendo estas características las responsables de su persistencia en las piezas dentarias tratados endodónticamente.^(5,6,7,8,9)

La pasta triantibiótica ha demostrado ser eficaz contra el *Enterococcus faecalis*, y actúa como medicamento intraconducto de las piezas dentarias (permanentes y deciduas) no vitales con infección persistente.^(10,11,12) Se han obtenido resultados superiores en la eliminación de patógenos endodónticos en estudios in vitro e in situ evidenciados clínica y radiográficamente, siendo superior al hidróxido de calcio (el material intracanal más utilizado) en términos de desinfección del conducto radicular e infecciones persistentes.⁽¹³⁾ En odontología pediátrica, la pasta triantibiótica puede ser un material alternativo a la extracción dental, ya que permite un tratamiento pulpar no instrumentado. Esto conlleva una reducción de las extracciones prematuras en piezas deciduas. Además, como se ha mencionado anteriormente, debido a su efecto potencial contra el *E. faecalis*, la pasta puede utilizarse para infecciones endodónticas persistentes, como las lesiones periapicales.^(10,11,12)

La pasta triantibiótica está conformada por tres antibióticos: ciprofloxacino, metronidazol y minociclina. La pasta triantibiótica modificada con cefaclor se ha utilizado debido a la pigmentación producida por la minociclina en los dientes.^(12,14,15)

Según la Farmacopea Europea,⁽¹⁶⁾ los preparados extemporáneos son preparaciones farmacéuticas elaboradas individualmente para un paciente o grupo de pacientes específicos y suministradas después de la preparación. Por lo tanto, la pasta triantibiótica puede considerarse un preparado extemporáneo debido a la manipulación y combinación de los fármacos para su preparación.

Actualmente, los fármacos triturados y almacenados en contenedores se comercializan para su uso; además algunos odontólogos luego de preparar y utilizar la pasta triantibiótica, conservan la pasta sobrante para utilizarla posteriormente.

Falconer⁽¹⁷⁾ menciona que para los productos extemporáneos tópicos la fecha de caducidad a corto plazo es de 28 días. Además, Nagel y otros⁽¹⁸⁾ indicaron que las formulaciones extemporáneas tópicas semisólidas pueden conservarse hasta por tres meses, si son dispensadas en recipientes de vidrio ámbar y conservadas a temperatura ambiente.

A nuestro conocimiento, no se han reportado estudios que evalúen la eficacia de la aplicación de la pasta triantibiótica después de varias horas de preparada. Por este motivo, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de la pasta triantibiótica frente al *E. faecalis*, según el momento de aplicación y el tiempo de conservación de los insumos utilizados para su preparación.

MÉTODOS

Estudio experimental in vitro realizado en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). La muestra estuvo conformada por tres colonias de cepas bacterianas del grupo *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 formadas en el agar bilis esculina, seleccionadas por conveniencia.

Se consideró como criterios de inclusión a las bacterias anaerobias facultativas pertenecientes al grupo del *Enterococcus faecalis* y como criterios de exclusión a las bacterias oportunistas.

Procesamiento de bacterias

Las bacterias fueron adquiridas del laboratorio Gen Lab SAC y se conservó en su envase original Kwik-Stik de 2 a 8 °C hasta su reactivación. Posteriormente, en condiciones de anaerobiosis, las bacterias se sembraron en una placa de agar bilis esculina (placa inicial), donde se esperó 24 horas el desarrollo de la cepa.

Tras la reactivación, se extrajeron tres colonias bacterianas de la placa inicial con un asa de inoculación y se inocularon en un tubo de ensayo con suero fisiológico. A continuación se evaluó la turbidez cada 5 minutos hasta que el medio presentó una turbidez de 0,5 según McFarland (observada a los 15 minutos).

Para la siembra, se extrajeron 100 uL de la solución anterior y se depositaron en una placa de agar bilis esculina; repitiendo el proceso a los 14 y 28 días. La diseminación se realizó con un asa Digrafsky. Esta secuencia se realizó seis veces en cada día de estudio.



Preparación de la pasta tri-antibiótica

Primero, a las tabletas de metronidazol (Metroflaxyl®, Laboratorio Sherfarma, Perú), ciprofloxacino (Ciprofloxacino®, Laboratorio Portugal, Perú) y minociclina (Acnebiot®, Laboratorio Iqfarma, Perú) se les retiró sus cubiertas y luego se trituraron en morteros estériles. Debido a su presentación, las cápsulas de cefaclor (cefaclor®, Laboratorio Iqfarma, Perú), no se necesitó retirarles las cubiertas ni fueron trituradas. Segundo, se depositaron en cuatro contenedores estériles de vidrio de color ámbar y fueron rotulados con el nombre de cada fármaco (insumos). Se utilizaron como vehículos el propilenglicol y el macrogol (polietilenglicol 400 y polietilenglicol 4000 mezclados en proporción 1:1).

La pasta medicada se preparó en 2 formulaciones: pasta triantibiótica convencional (pasta A: ciprofloxacina, metronidazol y minociclina) y pasta triantibiótica modificada (pasta B: cefaclor, metronidazol y minociclina). Se utilizó 1 mg de cada uno de los antibióticos en polvo en una proporción de 1:1:1 y se mezcló con los vehículos de propilenglicol y macrogol en una proporción de 1:1, formando una preparación pastosa de 1 mg/mL de polvo/líquido. Esto se hizo utilizando una balanza calibrada con precisión de 0,001g (Ohaus®).^(19, 20)

Interacción de las pastas medicadas y el *Enterococcus faecalis*

En la investigación, las evaluaciones se realizaron en tres días específicos: día 0, día 14 y día 28. El día 0, para la preparación de las pastas, se utilizaron componentes nuevos, recién obtenidos de comprimidos o cápsulas. En los días 14 y 28 se utilizaron componentes conservados durante 14 y 28 días respectivamente. Se realizaron dos intervenciones en cada día específico (mañana y tarde), utilizando tres placas para cada intervención. Por lo tanto, se utilizaron seis placas para cada día específico.

El experimento se repitió los días 0, 14 y 28. Finalmente, se utilizaron 18 placas para toda la investigación.

Al principio de cada día de estudio, se prepararon dos porciones de pasta A y dos de pasta B. En la intervención de la mañana, se utilizó una porción de pasta A y otra de pasta B (pastas de aplicación inmediata). Las porciones de pasta no utilizadas se envolvieron en papel pergamino y se depositaron en recipientes herméticos de vidrio ámbar, almacenándose durante 6 horas a temperatura ambiente, para ser utilizadas posteriormente en la intervención de la tarde (pasta de aplicación tardía).

Se hicieron tres pozos en cada placa (el espacio entre pozos era de 15 mm) para la colocación de la pasta A, la pasta B y la solución salina fisiológica, respectivamente. Por lo tanto, en cada intervención se hicieron tres pozos para aplicar la pasta A, tres para la pasta B y tres para la solución salina fisiológica. Para cada intervención se utilizó una porción de pasta A y una porción de pasta B, cada una de estas porciones se dividió en tres subporciones iguales mediante una balanza electrónica.

Las tres subporciones de pasta A se distribuyeron en sus tres pozos correspondientes, similar acción se realizó con las subporciones de pasta B, mientras que 20 μ L de solución salina fisiológica se depositaron en los pozos de control negativo. Finalmente, las placas fueron transportadas a la estufa a 37°C durante 1 día. Posteriormente, se determinó la actividad antimicrobiana de las pastas evaluadas mediante la medición de los halos de inhibición con un vernier calibrado (Tactix®, precisión de ± 0.02 mm/0.001) como se observa en la figura 1.



Fig.1 - Measurement of inhibition halos with a calibrated digital vernier.

Análisis estadístico

Para el procesamiento de datos se utilizó el paquete estadístico Stata versión 16.0. Para el análisis descriptivo, las variables categóricas se expresaron como frecuencias absolutas y relativas; y variables numéricas, como la media y la desviación estándar.

Para la comparación entre los grupos se utilizó la prueba de Kruskal Wallis y su prueba post hoc de comparaciones múltiples (Kwallis) en las que se penalizó el valor de p. Para la comparación entre dos grupos de estudio se utilizó la prueba t de Student para muestras independientes.



RESULTADOS

Se evaluó un total de 54 pozos, de los cuales 18 pozos de suero fisiológico no fueron incluidos en el análisis debido a que no se observó ningún halo de inhibición. Por cada intervención se midieron los halos de inhibición de seis pozos: tres correspondientes a la pasta A y tres a la pasta B. Luego se obtuvo el promedio de las tres mediciones correspondientes a cada pozo.

En los días 0 y 14 no hubo diferencia significativa entre la actividad antimicrobiana de la pasta triantibiótica convencional de aplicación inmediata y la de aplicación tardía. Sin embargo, en el día 28 la actividad antimicrobiana de la pasta triantibiótica convencional de aplicación inmediata fue significativamente mayor que la de aplicación tardía (Tabla 1).

Table 1 - Evaluation of the antimicrobial activity of conventional triantibiotic paste

Medición de pasta triantibiótica convencional (mm)				
		X	DE	P
Día 0	Inmediata	36,93	0,658	0,658
	Tardía	36,77	0,21	
Día 14	Inmediata	33,00	0,487	0,487
	Tardía	33,17	1,04	
Día 28	Inmediata	34,83	0,049	0,049
	Tardía	33,87	0,42	

Prueba estadística de Kruskal - Wallis ($p < 0,05$).

X: media.

DE: Desviación Estándar.

El día 0 la actividad antimicrobiana de la pasta triantibiótica modificada de aplicación inmediata fue significativamente mayor a la de aplicación tardía. En los días 14 y 28, no hubo diferencia significativa entre la actividad antimicrobiana de la pasta triantibiótica modificada de aplicación inmediata y la de aplicación tardía (tabla 2).

Table 2 - Evaluation of the antimicrobial activity of the modified triantibiotic paste

Medición de la pasta triantibiótica modificada (mm)				
		X	DE	p
Día 0	Inmediata	37,23	0,046	0,046
	Tardía	34,67	1,27	
Día 14	Inmediata	33,67	0,246	0,246
	Tardía	32,83	1,04	
Día 28	Inmediata	33,60	1,000	1,000
	Tardía	33,60	0,95	

Kruskall - Wallis statistical test

($p < 0,05$); X: media

SD: Standard Deviation

CI: Confidence Intervals

En la aplicación inmediata (tabla 3), la pasta triantibiótica convencional durante el día 0 tuvo un halo de inhibición significativamente mayor que durante los días 14 y 28. En la aplicación tardía (tabla 4), durante el día 0, la pasta triantibiótica convencional tuvo un halo de inhibición significativamente de mayor zona de inhibición que la pasta triantibiótica modificada. En la prueba de comparaciones múltiples se encontró que, en el grupo de pasta convencional de aplicación inmediata, hubo una diferencia estadísticamente significativa entre el día 0 y 14 ($p = 0.003$).

Table 3 - Comparison of the antimicrobial activity of immediately prepared triantibiotic paste according to the time of application

	Inmediata				p**
	Convencional (mm)		Modificada (mm)		
	X	DE	X	DE	
Día 0	36,93	0,90	37,23	0,42	0,827
Día 14	33,00	0,00	33,67	0,58	0,114
Día 28	34,83	0,42	33,60	0,98	0,184
p*	0,024		0,065		

Prueba estadística de Kruskal - Wallis ($p < 0,05$).

X: media; DE: Desviación Estándar.

(*) Comparación intragrupo según el tiempo de las pastas antibióticas.

(**) Comparación entre grupos según tipo de pasta antibiótica.

Table 4 - Comparison of the antimicrobial activity of triantibiotic paste preserved for hours according to the time of application

	Inmediata				p**
	Convencional (mm)		Modificada (mm)		
	X	SD	X	SD	
Día 0	36,77	0,21	34,67	1,27	0,046
Día 14	33,17	1,04	32,83	1,04	0,822
Día 28	33,87	0,42	33,60	0,95	0,513
p*	0,055		0,146		

DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de dos pastas triantibióticas (convencional y modificada) contra *E. faecalis*, según el momento de aplicación y el tiempo de conservación de los componentes utilizados para su preparación.

Este estudio encontró que en el día 0, la pasta triantibiótica modificada aplicada inmediatamente tenía una actividad antimicrobiana potencialmente más alta que la pasta aplicada más tarde. Para el día 28 la pasta triantibiótica convencional de aplicación inmediata tenía una actividad antimicrobiana potencialmente mayor que la pasta de aplicación tardía. Además, la pasta preparada con componentes recién obtenidos (día 0) tuvo mayor actividad antimicrobiana que la pasta preparada con componentes almacenados durante 14 y 28 días.

En los días 0 y 14 se encontró que la pasta triantibiótica convencional de aplicación inmediata presentó una actividad antimicrobiana similar a la de una aplicación tardía. En cambio, el día 28 la pasta triantibiótica convencional de aplicación inmediata presentó una actividad antimicrobiana superior a la de aplicación tardía ($p = 0,049$). En el presente estudio las diferencias encontradas en la actividad antimicrobiana fueron mínimas con un valor de significancia marginal ($p = 0,049$), lo que llevaría a cambios en estos resultados en un ámbito clínico. No obstante, estos resultados sugieren que la pasta de triantibióticos convencional preparada y almacenada durante 6 horas puede tener una actividad antimicrobiana más baja en comparación con la pasta de triantibióticos convencional preparada y utilizada inmediatamente. Estos resultados difieren de los informados por Sain y otros,⁽²⁰⁾ quienes mencionan que la pasta triantibiótica convencional preparada y sin usar puede almacenarse hasta 24 horas después de su preparación, o que si la mezcla se torna translúcida al almacenarla debe desecharse.

Además en el día 0 se encontró que la pasta triantibiótica modificada de aplicación inmediata presentó una actividad antimicrobiana superior a la de aplicación tardía ($p = 0,046$). Por otra parte, en los días 14 y 28 se encontró que la pasta triantibiótica modificada de aplicación inmediata presentó una actividad antimicrobiana similar a la de aplicación tardía. A nuestro conocimiento no existen estudios previos que hayan evaluado el efecto antimicrobiano de la pasta triantibiótica modificada con cefaclor según el momento de aplicación (inmediata o tardía).

Bravo⁽²¹⁾ reportó que las soluciones de la combinación triantibiótica convencional y modificada con cefaclor tuvieron una concentración bactericida mínima (CBM) de 25 $\mu\text{g/mL}$ para erradicar al *E. faecalis* en tubos de caldo soja tripticaseína (TSB). Así mismo, Dewi y otros⁽¹⁵⁾ encontraron que la pasta triantibiótica convencional requirió una CBM de 10 mg/mL y la pasta triantibiótica modificada con amoxicilina requirió una CBM de 20 mg/mL para erradicar al *E. faecalis* de los túbulos dentinarios. Esto resalta la importancia de evaluar a las pastas triantibióticas y reconocer que la variabilidad de los fármacos empleados para su preparación influye en la concentración necesaria para erradicar al *E. faecalis*. Además, ambos estudios refieren que es necesario realizar investigaciones que evalúen la estabilidad de la pasta triantibiótica a través del tiempo, debido a que



los profesionales de la salud en odontología la emplean de forma muy variable y sin evidencia científica que lo respalde.

Sobre la vida útil de los componentes y aplicación inmediata o diferida de pasta triantibiótica convencional y modificada, en el presente estudio se encontró que la pasta preparada con componentes nuevos recién obtenidos (día 0) tuvo mayor actividad antimicrobiana que la pasta preparada con componentes almacenados durante 14 y 28 días. La manipulación y conservación de los fármacos utilizados en la elaboración de las pastas (componentes) pudo haber comprometido su estabilidad fisicoquímica y microbiológica. Esto podría explicar la menor actividad antimicrobiana (evaluada por zonas de inhibición) de las pastas preparadas con componentes almacenados por 14 y 28 días, en comparación con las pastas preparadas con insumos nuevos recién obtenidos.

En cuanto al tiempo de conservación de los componentes utilizados en la elaboración de la pasta triantibiótica convencional, Dasari y otros⁽¹⁹⁾ mencionan que pueden conservarse por un período máximo de 30 días. Sin embargo, no reporta información sobre estudios que respalden esta afirmación con respecto a la actividad antimicrobiana de la pasta. Hasta donde sabemos, no existen estudios similares que comparen la actividad antimicrobiana de la pasta triantibiótica según el tiempo de conservación de los componentes utilizados para su preparación.

Los criterios a considerar para determinar la fecha de caducidad de un medicamento dependen del tipo de almacenamiento, la modificación estructural del principio activo y los factores microbiológicos (cantidad de partículas viables que pueda contener el fármaco). Además, cuando se abre el empaque y el medicamento es manipulado, la fecha de caducidad deja de respaldar la calidad del producto debido a los factores que podrían modificar su estabilidad como: factores químicos (oxidación, reducción, hidrólisis), físicos (fotólisis y aglomeración) y microbiológicos (alteración de la esterilidad).^(22, 23)

Algunos estudios, como el de Makeen y otros⁽²⁴⁾ realizaron pruebas de estabilidad de la pomada de salicilato de metilo para determinar su vida útil. Ellos encontraron que la formulación dermatológica del ungüento de salicilato de metilo mantiene el 90 % de sus propiedades al conservarse durante 176 días en el refrigerador (2°C - 8°C) y 131 días a temperatura ambiente (25°C ± 5°C). Por lo tanto, esta pomada es estable a temperaturas frías, pero muestra una degradación rápida en condiciones de temperatura alta. Esto resalta la importancia del conocimiento de las condiciones ambientales de los productos empleados para su aplicación clínica por los profesionales de la salud.

Un aspecto importante de la calidad de los preparados extemporáneos utilizados en el campo médico es la evaluación de su estabilidad con el paso del tiempo. Los preparados extemporáneos no se someten a estudios exhaustivos para evaluar su estabilidad, como sí sucede con los productos de las industrias alimentarias.⁽²⁴⁾ Por lo tanto, el presente estudio es una aproximación para evaluar la estabilidad de los insumos empleados para la preparación de las pastas triantibióticas y la estabilidad de las pastas triantibióticas ya preparadas, las que son frecuentemente utilizadas en infecciones pulpares y periapicales en pacientes pediátricos.

El presente estudio presenta algunas limitaciones en cuanto al diseño, ya que al ser un estudio in vitro, no considera la complejidad del biofilm oral, que genera condiciones orales particulares en los pacientes. Sin embargo, este estudio es una exploración inicial del efecto antimicrobiano de la pasta triantibiótica sobre el *E. faecalis*, que luego podrá contrastarse con algunos estudios clínicos.

CONCLUSIONES

En el presente estudio, se encontró que tanto el momento de aplicación de la pasta triantibiótica, como los tiempos de conservación de los insumos, podrían influir en la actividad antimicrobiana para la erradicación del *E.terococcus faecalis*.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*. 2020;12(3):e7257-e. DOI: [10.7759/cureus.7257](https://doi.org/10.7759/cureus.7257)

2. Prada I, Micó Muñoz P, Giner Lluésma T, Collado Castellano N, Manzano Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2019 May 1;24(3):e364-e372. DOI: [10.4317/medoral.22907](https://doi.org/10.4317/medoral.22907)

3. Dioguardi M, Di Gioia G, Illuzzi G, Arena C, Caponio VCA, Caloro GA, Zhurakivska K, Adipietro I, Troiano G, Lo Muzio L. Inspection of the Microbiota in Endodontic Lesions. *Dent J (Basel)*. 2019 May 1;7(2):47. DOI: [10.3390/dj7020047](https://doi.org/10.3390/dj7020047)

4. Makandar S, Noorani T. Triple antibiotic paste - Challenging intracanal medication: A systematic review. *J Int Oral Health*. 2020;12(3):189-96. DOI: [10.4103/JIOH.JIOH_213_19](https://doi.org/10.4103/JIOH.JIOH_213_19)

5. Saatchi M, Shokraneh A, Navaei H, Maracy MR, Shojaei H. Antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*: a systematic review and meta-analysis. *J Appl Oral Sci*. 2014;22(5):356-65. DOI: [10.1590/1678-775720140032](https://doi.org/10.1590/1678-775720140032)

6. Wang Y, Guo L Y, Fang H Z, Zou W L, Yang Y M, Gao Y, et al. An in vitro study on the efficacy of removing calcium hydroxide from curved root canal systems in root canal therapy. *Int J Oral Sci*. 2017;9(2):110-6. DOI: [10.1038/ijos.2017.14](https://doi.org/10.1038/ijos.2017.14)



7. Jia L, Zhang X, Shi H, Li T, Lv B, Xie M. The Clinical Effectiveness of Calcium Hydroxide in Root Canal Disinfection of Primary Teeth: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit.* 2019;25:2908-16. DOI: [10.12659/MSM.913256](https://doi.org/10.12659/MSM.913256)
8. Alireza adl, Sabie Hamed, Mahdi Sedigh Shams, et al. The Ability of Triple Antibiotic Paste and Calcium Hydroxide in Disinfection of Dentine Tubules. *Iran Endod J.* 2014; 9(2): 123-26. DOI: [10.22037/iej.v9i2.4816](https://doi.org/10.22037/iej.v9i2.4816)
9. Kishen A, George S, Kumar R. Enterococcus faecalis-mediated biomimetic biofilm formation on root canal dentine in vitro. *J Biomed Mater Res A.* 2006 May;77(2):406-15. DOI: [10.1002/jbm.a.30622](https://doi.org/10.1002/jbm.a.30622)
10. Hoshino E, Kurihara Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J.* 1996;29(2):125-30. DOI: [10.1111/j.1365-2591.1996.tb01173.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1996.tb01173.x)
11. Alam T, Nakazawa F, Nakajo K, Uematsu H, Hoshino E. Susceptibility of Enterococcus faecalis to a Combination of Antibacterial Drugs (3Mix) in vitro. *J Oral Biosci.* 2005;47(4):315-20. DOI: [10.1016/S1349-0079\(05\)80014-3](https://doi.org/10.1016/S1349-0079(05)80014-3)
12. Mohammadi Z, Jafarzadeh H, Shalavi S, Yaripour S, Sharifi F, Kinoshita J-I. A Review on Triple Antibiotic Paste as a Suitable Material Used in Regenerative Endodontics. *Iran Endod J.* 2018;13(1):1-6. DOI: [10.22037/iej.v13i1.17941](https://doi.org/10.22037/iej.v13i1.17941)
13. Dhillon JS, Amita, Saini SK, Bedi HS, Ratol SS, & Gill B. Healing of a large periapical lesion using triple antibiotic paste and intracanal aspiration in nonsurgical endodontic retreatment. *Indian J Dent.* 2004; 5(3):161-5. DOI: [10.4103/0975-962X.140843](https://doi.org/10.4103/0975-962X.140843)
14. Asnaashari M, Eghbal MJ, Sahba Yaghmayi A, Shokri M, Azari Marhaba S. Comparison of antibacterial effects of photodynamic therapy, modified triple antibiotic paste and calcium hydroxide on root canals infected with enterococcus faecalis: an in vitro study. *J Lasers Med Sci.* 2019;10(Suppl 1):S23-9. DOI: [10.15171/jlms.2019.S5](https://doi.org/10.15171/jlms.2019.S5)
15. Dewi A, Upara C, Krongbaramtee T, Louwakul P, Srisuwan T, Khe-maleelakul S. Optimal antimicrobial concentration of mixed antibiotic pastes in eliminating Enterococcus faecalis from root dentin. *Aust Endod J.* 2020. DOI: [10.1111/aej.12437](https://doi.org/10.1111/aej.12437)
16. Pharmaceutical Preparations. In *European Pharmacopoeia 9.5. Supplement*; Council of Europe: Strasbourg, France, 2018; pp. 5569-71.
17. Falconer JR, Steadman KJ. Extemporaneously compounded medicines. *Aust Prescr.* 2017;40(1):5-8. DOI: [10.18773/austprescr.2017.001](https://doi.org/10.18773/austprescr.2017.001)
18. Nagel K, Ali F, Al Khudari S, Khan A, Patel K, Patel N, Desai A. Extemporaneous compounding of medicated ointments. *Int J Pharm Compd.* 2010;14(6):472-8. PMID: [23965650](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23965650/)
19. Dasari V, Maroli S, Chowdary L, Karukola R, Premakumar SH, Vusurumarthi V. An in vivo study evaluating lesion sterilization and tissue repair 3 MIX-MP noninstrumentation endodontic treatment as an alternative to conventional endodontic retreatment. *CHRISMED J Health Res* 2016;3:284-7. DOI: [10.4103/2348-3334.190579](https://doi.org/10.4103/2348-3334.190579)
20. Sain S, Reshmi J, Anandaraj S, George S, S Issac J, A John S. Lesion Sterilization and Tissue Repair-Current Concepts and Practices. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2018;11(5):446-50. DOI: [10.5005/jp-journals-10005-1555](https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1555)
21. Bravo. S. Efectos antibacterianos de las combinaciones alternativas de la droga 3Mix y MP sobre bacterias prevalentes en necrosis pulpar. [Tesis Pregrado]. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4459>
22. Aucamp M, Milne M. The physical stability of drugs linked to quality-by-design (QbD) and in-process technology (PAT) perspectives. *Eur J Pharm Sci.* 2019; 139:105057. DOI: [10.1016/j.ejps.2019.105057](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105057)
23. Rendón Laura M., Sara Lopera, Naira Y. Valencia. Estabilidad de los medicamentos después del primer uso. *J Pharm Pharmacogn Res.* 2018[acceso 15/08/2021];6(5):412-23. Disponible en: <https://jppres.com/jppres/estabilidad-de-los-medicamentos-despues-del-primer-uso/>
24. Makeen HA, Pancholi SS, Alhazmi HA, Ezzi AA, Hazzazi AJA, Meraya AM. Stability testing of extemporaneous preparation of methyl salicylate ointment. *J Health Spec* 2018;6:72-6. DOI: [10.4103/jhs.JHS_14_18](https://doi.org/10.4103/jhs.JHS_14_18)

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare to have no compelling interests with this article.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS:

Conceptualization: Carla Román Inoñan, Victor Chumpitaz Cerrate.

Data curation: Carla Román Inoñan, Victor Chumpitaz Cerrate.

Formal analysis: Carla Román Inoñan, Lesly Chávez Rimache, Cesar Franco Quino.

Research: Carla Román Inoñan, Victor Chumpitaz Cerrate, Lesly Chávez Rimache, Cesar Franco Quino, Carlos Erazo Paredes.

Methodology: Carla Román Inoñan, Victor Chumpitaz Cerrate.

Project administration: Victor Chumpitaz Cerrate.

Resources: Carla Román Inoñan

Supervision: Victor Chumpitaz Cerrate.

Validation: Carla Román Inoñan

Visualization: Carla Román Inoñan, Victor Chumpitaz Cerrate, Lesly Chávez Rimache, Cesar Franco Quino, Carlos Erazo Paredes.

Editing-original draft: Carla Román Inoñan, Victor Chumpitaz Cerrate, Lesly Chávez Rimache, Cesar Franco Quino, Carlos Erazo Paredes.

Writing-proofreading and editing: Carla Román Inoñan, Victor Chumpitaz Cerrate, Lesly Chávez Rimache, Cesar Franco Quino, Carlos Erazo Paredes.

