

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
DE LOS CEMENTOS SELLADORES CERASEAL,
EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO
CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

**TRABAJO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

PRESENTA

C.D. HERNÁN MEJÍA SÁNCHEZ

PRESIDENTE

(DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

SINODAL

(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)

DR. MANUEL ALATORRE MEDA

SINODAL

(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

SINODAL

(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES HOFMANN SALCEDO

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA, MEXICO

Junio de 2024

**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
LOS CEMENTOS SELLADORES CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC
SEALER Y NEOSEALER FLO CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

**"2024, año de los pueblos yumaros, pueblos originarios y de las personas
afromexicanas"**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, Baja California a, 31 de mayo de 2024

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS CEMENTOS SELLADORES CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO CONTRA ENTEROCOCCUS FAECALIS.**

Propuesto por el C.D. **HERNAN MEJÍA SÁNCHEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**A T E N T A M E N T E
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"**



**DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ
PRESIDENTE**

"2024, año de los pueblos yumaros, pueblos originarios y de las personas
afromexicanas"

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, Baja California a, 31 de mayo de 2024

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS CEMENTOS SELLADORES CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO CONTRA ENTEROCOCCUS FAECALIS.**

Propuesto por el C.D. **HERNAN MEJÍA SÁNCHEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"**


DR. MANUEL ALATORRE MEDA
SINODAL

**"2024, año de los pueblos yumaros, pueblos originarios y de las personas
afromexicanas"
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, Baja California a, 31 de mayo de 2024

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS CEMENTOS SELLADORES CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO CONTRA ENTEROCOCCUS FAECALIS.**

Propuesto por el C.D. **HERNAN MEJÍA SÁNCHEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"**



**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ
SINODAL**

**"2024, año de los pueblos yumaros, pueblos originarios y de las personas
afromexicanas"**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, Baja California a, 31 de mayo de 2024

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS CEMENTOS SELLADORES CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO CONTRA ENTEROCOCCUS FAECALIS.**

Propuesto por el C.D. **HERNAN MEJÍA SÁNCHEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**A T E N T A M E N T E
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"**



**DRA. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES HOFMANN SALCEDO
SINODAL**

**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA DE LOS CEMENTOS SELLADORES
CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER
FLO CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

PRESENTA



C.D. HERNÁN MEJÍA SÁNCHEZ

PRESIDENTE

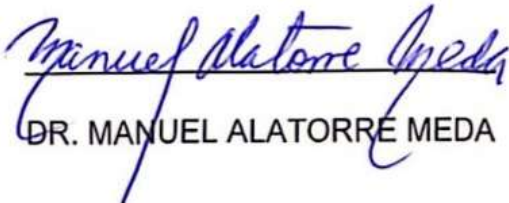
(DIRECTORA DEL PROYECTO)



DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

SINODALES

(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)



DR. MANUEL ALATORRE MEDA



DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ



DRA. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES HOFMANN SALCEDO

Tijuana, Baja California, junio 2024

AGRADECIMIENTOS

Para mí es importante expresarme mi agradecimiento a las siguientes personas:

A mi familia en general, pero sobre todo a mis padres, que siempre han sido y serán la razón el motor de mi vida, gracias por haber creído en mí y por haberme apoyado todos estos años, gracias a ustedes hoy estoy cumpliendo una meta más.

A la Dra. Ana Gabriela Carillo Vázquez, por haberme dado la oportunidad de formar parte de este posgrado.

A mi Directora de tesis, la Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez, por toda la ayuda brindada, por compartir sus conocimientos, por su paciencia y comprensión, así como su tiempo para que este proyecto pudiera realizarse.

A mi Co-director, el Dr. Manuel Alatorre Meda, por aportar sus conocimientos para que este proyecto pudiera realizarse.

A mi Co-directora, la doctora María Elena de los Ángeles Hofmann por su aportación para que este trabajo pudiera llevarse a cabo.

A mis compañeros y docentes, por los consejos, aprendizajes y enseñanzas durante este transcurso, sin duda sé que les espera un futuro lleno de éxitos.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Quiero agradecer a las siguientes instituciones:

A CONAHCyT por la beca otorgada, No. CVU 1226470

Se agradece al Laboratorio Zapata por la donación de la bacteria *E. faecalis*.

Se agradece al Laboratorio de Evaluación Microbiológica de Biomateriales de la Facultad de Odontología-Tijuana, UABC; por permitirnos realizar la experimentación en sus instalaciones. Responsable: Dr. Leonardo Daniel Acosta Torres Very.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
CONTENIDO.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ECUACIONES	vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
2.1. ENDODONCIA	2
2.2. TRATAMIENTO ENDODÓNTICO	3
2.3. OBTURACIÓN.....	5
2.4. BACTERIAS DEL CONDUCTO RADICULAR	6
2.4.1. <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i>	6
2.5. CEMENTOS SELLADORES.....	7
2.5.1. CEMENTO A BASE DE ÓXIDO DE ZINC Y EUGENOL.....	8
2.5.2. CEMENTO A BASE DE HIDRÓXIDO DE CALCIO.....	9
2.5.3. CEMENTOS A BASE DE IONÓMERO VITREO.....	10
2.5.4. CEMENTOS A BASE DE RESINA.....	11
2.5.5. CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS	12
2.6. BIOCERÁMICOS.....	13
2.6.1. CEMENTO BIOCERÁMICO CERASEAL METABIOMED.....	14
2.6.2. CEMENTO BIOCERÁMICO EDGEBIOCERAMIC SEALER	14
2.6.3. CEMENTO BIOCERÁMICO NEOSEALER FLO	15

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
IV. JUSTIFICACIÓN	18
V. HIPÓTESIS	19
VI. OBJETIVOS	20
6.1. OBJETIVO GENERAL	20
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
VII. VARIABLES	21
7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES	21
7.2. VARIABLES DEPENDIENTES	21
7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES	21
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	22
8.1. TIPO DE ESTUDIO	22
8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO	22
8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL	23
8.4. METODOLOGÍA	24
8.4.1. Preparación de las muestras	24
8.4.2. Preparación de la suspensión madre de bacterias	25
8.4.3. Ensayo de difusión en agar	26
8.4.4. Ensayo de difusión en caldo	27
8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
IX. RESULTADOS	30
9.1. ENSAYOS DE DIFUSIÓN EN AGAR	30
En la Figura 18 se muestra la actividad antibacteriana de los cementos biocerámicos objeto de estudio contra <i>E. faecalis</i> (halo de inhibición, 24, 48 y 72 h) a partir de ensayos de difusión en agar. Se observa que los cementos biocerámicos objeto de estudio presentaron actividad antibacteriana moderada.	31

9.2. ENSAYOS DE DIFUSIÓN EN CALDO	33
X. DISCUSIÓN	36
XI. CONCLUSIONES	37
XII. RECOMENDACIONES	38
XIII. BIBLIOGRAFÍA.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación de la anatomía dental..... 3

Figura 2. Localización de los conductos de un molar inferior 4

Figura 3. Obturación radicular..... 5

Figura 4. Cemento sellador Pulp Canal Sealer. 9

Figura 5. Cemento sellador Sealapex. 10

Figura 6. Cemento sellador Ketac-Endo. 11

Figura 7. Cemento AH Plus..... 12

Figura 8. Cemento biocerámico. 13

Figura 9. Cemento biocerámico CeraSeal. 14

Figura 10. Cemento EdgeBioceramic Sealer. 15

Figura 11. Cemento biocerámico NeoSEALER Flo..... 15

Figura 12. Colocación de materiales objeto de estudio en discos de papel 24

Figura 13. Preparación de la suspensión madre de *E. faecalis* 25

Figura 14. Preparación de muestras para ensayo de difusión en agar 26

Figura 15. Medición de los halos de inhibición..... 27

Figura 16 Preparación de muestras para ensayo de difusión en caldo..... 28

Figura 17. Procesamiento de las muestras 29

Figura 18. Ensayo de difusión en agar después de su incubación por 24, 48 y 72 h.... 30

Figura 19. Halo de inhibición bacteriana tras la incubación de las muestras en contacto con las bacterias por 24, 48 y 72 h. 31

Figura 20. Fotografías representativas del control 1, grupos 1-3, control 2 y blanco 4 objeto de estudio después de 24 h de incubación contra *E. faecalis*. 33

Figura 21 Actividad antibacteriana de los cementos biocerámicos a partir de ensayos de difusión en caldo contra *E. faecalis*. 34

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Bacterias en el caldo (%)..... 29

LISTA DE ABREVIATURAS

BC	Biocerámicos
BHI	Infusión cerebro corazón, por sus siglas en ingles
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
h	horas
mcg	Microgramos
MTA	Agregado de Trióxido Mineral, por sus siglas en inglés
nm	Nanómetro
µg/ml	Microgramo por mililitro
µl	Microlitro
UFC/ml	Unidad formadora de colonias por mililitro
TSA	Agar de Soya Tripticaseína

I. RESUMEN

Introducción: Se ha postulado que un correcto tratamiento endodóntico está basado en una triada de factores que comprende el acceso endodóntico, la preparación químicomecánica y la obturación radicular. En la etapa de obturación, el material de relleno ideal es la gutapercha, pero debido a su falta de adhesión a las paredes del conducto, debe ir acompañado de un cemento sellador, cuyo papel principal es asegurar un sellado hermético del sistema de conductos radicular además de desplegar actividad antibacteriana en la medida de lo posible. **Objetivo:** Evaluar la actividad antibacteriana de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSEALER Flo contra *E. faecalis* a través de ensayos *in vitro*. **Metodología:** Se evaluó la actividad antibacteriana de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, Neo SEALER Flo, empleando como blancos agua estéril, gentamicina y ampicilina. La actividad antibacteriana se evaluó a través de ensayos de difusión en agar y difusión en caldo. Para ambos, ensayos las muestras objeto de estudio fueron dispensadas en discos de papel filtro estéril de 6 mm de diámetro, mismos que fueron puestos en contacto directo sobre la superficie del agar inoculado con *E. faecalis* (ensayo de difusión en agar) e inmersos en el seno de caldo de cultivo BHI inoculado con *E. faecalis* (ensayo de difusión en caldo). Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente por Análisis de la Varianza de una vía (ANOVA) con post hocs Tukey y Bonferroni, considerando un intervalo de confianza del 95%. **Resultados:** Los cementos CeraSeal y EdgeBioceramic Sealer presentaron actividad antibacteriana moderada contra *E. faecalis* en ensayos de contacto directo, con diferencia estadísticamente significativa con respecto a agua estéril y gentamicina, en los tres puntos de tiempo estudiados ($p < 0.05$, con respecto a ambos controles). Por otro lado, la actividad antibacteriana de los tres cementos biocerámicos se validó como nula a través de los ensayos de difusión en caldo, sin exhibir diferencia estadísticamente significativa en su actividad ni entre ellos ni en comparación con los controles de caldo BHI y agua estéril ($p > 0.05$ en todos los casos). **Conclusión:** Con base en los resultados obtenidos, se confirmó la hipótesis alternativa (H1) de este proyecto.

II. INTRODUCCIÓN

2.1. ENDODONCIA

La Endodoncia es una especialidad de la Odontología, que fue reconocida por la Asociación Dental Americana en el año de 1963, que se encarga de estudiar la estructura, morfología y fisiología de las cavidades dentarias coronal y radicular, que contienen la pulpa dental y, a su vez, trata las afecciones del complejo dentinopulpar y de la región periapical, el procedimiento consiste en la limpieza del sistema de conductos radiculares en el que se eliminan bacterias y tejido necrótico para dejar el conducto lo más aséptico posible (1,2).

En su ámbito integra las ciencias básicas y clínicas que se ocupan de la biología de la pulpa, así como etiopatogenia, el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de las enfermedades y lesiones de la pulpa y de los tejidos perirradiculares asociados (3).

La pulpa (Figura 1) es un tejido conjuntivo lacio de características especiales, que mantiene relación íntima con la dentina, la que rodea y con la que constituye una unidad funcional denominada complejo pulpodentinario; ocupa la cavidad central del diente y se comunica con el ligamento periodontal a través del foramen apical o foraminas apicales, inclusive por medio de eventuales conductos laterales, por los que pasan elementos vasculares y nerviosos (4).

Desde un punto de vista histológico. La pulpa se asemeja bastante a otros tejidos conjuntivos del cuerpo por su contenido de células, las cuales incluyen a los fibroblastos, macrófagos y linfocitos, contiene fibras colágenas y reticulares, sustancia fundamental amorfa, líquido tisular entre otros componentes (4).

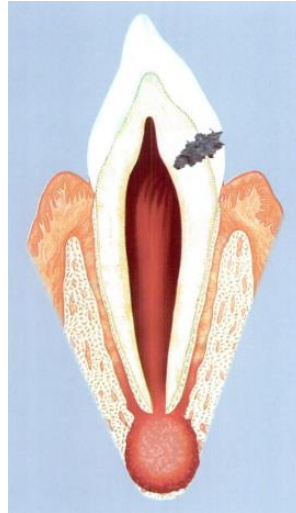


Figura 1. Representación de la anatomía dental

En la figura se muestra el esquema de un canino inferior con presencia de caries dental y sus consecuencias sobre los tejidos pulpar y periapical (4).

Ha sido postulado que un correcto tratamiento endodóntico está basado en una tríada de factores que se relacionan entre sí y que incluyen el acceso, la preparación y la obturación radicular. Estos factores no son suficientes para lograr el éxito, pues deben ser complementados por la irrigación, la medicación intraconducto, cuando el caso lo requiera y un buen sellado coronario temporal y definitivo mediante una adecuada rehabilitación de la pieza dentaria con la finalidad de restituir su función (2).

2.2. TRATAMIENTO ENDODÓNTICO

El acceso al conducto radicular (Figura 2) es la primera etapa ya clínica del tratamiento endodóntico, es el conjunto de procedimientos que se inicia con la apertura coronaria, esta permite la limpieza de la cámara pulpar y la rectificación de sus paredes y se continúa con la localización y preparación de su entrada (4).



Figura 2. Localización de los conductos de un molar inferior

En la figura se muestra la entrada de los conductos mesiales y distal después de instrumentarlo con un abridor (4).

Los accesos ejecutados de manera descuidada o sin observar los postulados básicos determina el fracaso endodóntico. La realización correcta del acceso permitirá la llegada de los instrumentos endodónticos hasta la constricción apical con interferencias mínimas o nulas (4).

Posteriormente se procede a su instrumentación, el tratamiento endodóntico depende fundamentalmente de la preparación (limpieza y el modelaje o conformación) del sistema de conductos radiculares y de su obturación, para prevenir el desarrollo de las patologías periapicales. De esta forma, la instrumentación de los conductos radiculares tiene dos objetivos los cuales son la limpieza y conformación, es decir, a la remoción de la infección de la pulpa inflamada y a la creación o formación de un espacio para la obturación, siempre acompañado de la irrigación (5).

La asociación dental americana de endodoncistas, define la irrigación como el lavado mediante una corriente de fluido. La irrigación dentro del conducto radicular promueve la remoción física de materiales de interior del sistema de conductos e introducción de químicos con actividad antimicrobiana, desmineralizante, disolutiva del tejido, blanqueante, desodorante y proporciona un control cuando hay presencia de sangrado. Debido a la complejidad del sistema de conductos, refiriéndose a presencia de conductos laterales, accesorios, istmos, deltas apicales, la instrumentación mecánica por sí sola no puede remover todo el tejido infectado y las bacterias que aún permanecen dentro del

conducto. Por lo tanto, es necesario utilizar soluciones irrigantes en asociación con la instrumentación mecánica para lograr este objetivo (5).

2.3. OBTURACIÓN

Una vez instrumentado los conductos radiculares acompañado de una eficiente desinfección mediante la irrigación, se prepara el diente para su posterior obturación (Figura 3) la cual se define como el reemplazo del contenido del conducto radicular y del espacio creado por la instrumentación biomecánica por un material que lo rellene en forma permanente, tridimensional y estable, cerrando toda comunicación con la cavidad oral y el periodonto apical. El principal objetivo es crear una barrera hermética a la penetración microbiana y a los fluidos tisulares (6).



Figura 3. Obturación radicular.

En la figura se observa la obturación de un segundo molar inferior de un solo conducto radicular (4).

La gutapercha sigue siendo uno de los materiales más usados, pero debido a su falta de fluidez y adhesión a las irregularidades del conducto, debe estar siempre combinada con un cemento sellador, los cuales pueden ser a base de óxido de zinc y eugenol, hidróxido de calcio, ionómero de vidrio, a base de resina, y cementos biocerámicos, el cual actúa como interfase entre la masa de gutapercha y la estructura dentaria, además, contribuye a la desinfección del conducto gracias a su efecto antimicrobiano, y finalmente es importante reseñar su efecto lubricante, lo que facilita la técnica de obturación (6).

2.4. BACTERIAS DEL CONDUCTO RADICULAR

Una constante preocupación por parte del endodoncista es la eliminación de los microorganismos de los conductos radiculares infectados. En la cavidad bucal existen aproximadamente 10¹⁰ bacterias, con más de 700 diferentes especies de bacterias, los que buscan un nicho de nutrición (7). Una de las principales causas de fracaso en tratamientos de endodoncia es la permanencia de microorganismos en los conductos radiculares. Dentro de las numerosas especies bacterianas existentes, una de las más frecuentemente encontradas en dientes con necrosis pulpar y la más aislada en aquellos con recidiva de infección es *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) (8).

2.4.1. ENTEROCOCCUS FAECALIS

E. faecalis es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, que es inmóvil y no esporulado. El tamaño de cada célula oscila entre 0.5 y 0.8 micrómetros y es habitante del tracto gastrointestinal humano y de otros mamíferos, aves, reptiles, insectos entre otros, siendo capaces de colonizar el tracto genitourinario y la cavidad oral (9,10). Las células de *E. faecalis* hambrientas mantienen su viabilidad durante periodos prolongados y se vuelven resistentes a la irradiación ultravioleta, el calor, el hipoclorito de sodio, el peróxido de hidrógeno, el etanol y el ácido (11).

La bacteria *E. faecalis*, que es responsable del 80-90% de las infecciones enterocócicas humanas, es la especie de enterococo dominante y suele ser la única especie recuperada de los conductos radiculares obturados. Estos hechos indican que *E. faecalis* tiene un papel protagónico en el fracaso del tratamiento de conductos y en el caso de dientes con enfermedad postratamiento (12,13).

E. faecalis se asocia a diferentes formas de enfermedad perirradicular, incluidas las infecciones endodónticas primarias y las infecciones persistentes (14). En la categoría de infecciones endodónticas primarias, *E. faecalis* se asocia a lesiones perirradiculares crónicas asintomáticas con una frecuencia significativamente mayor que a periodontitis perirradicular aguda o abscesos perirradiculares agudos. *E. faecalis* se encuentra en el 4 al 40% de las infecciones endodónticas primarias. Se ha demostrado que la frecuencia de *E. faecalis* en lesiones perirradiculares persistentes es mucho mayor. De hecho, los

casos de endodoncia fallida tienen nueve veces más probabilidades de contener *E. faecalis*. Además, posee ciertos factores de virulencia, como enzimas líticas, citolisina, sustancia de agregación, feromonas y ácido lipoteicoico. Se ha demostrado que se adhiere a las células del hospedador, expresa proteínas que le permiten competir con otras células bacterianas y altera las respuestas del hospedador. *E. faecalis* es capaz de suprimir la acción de los linfocitos, lo que puede contribuir al fracaso de la endodoncia (14).

Cuando se ha identificado *E. faecalis* en casos de tratamiento endodóntico fallido, se ha demostrado que es difícil de erradicar durante el retratamiento, ya que se han realizado estudios y se ha detectado la presencia de *E. faecalis* en la saliva, que oscila entre el 18.8% a 40.5% y es por esto que se piensa que los dientes sometidos al tratamiento de conductos que se asocian al retratamiento del mismo, está asociada a la presencia de *E. faecalis* en la saliva. (15,16). Una vez establecido en el conducto radicular, *E. faecalis* se enfrenta a varios retos para sobrevivir, incluida la capacidad de resistir a los agentes antimicrobianos utilizados durante el tratamiento. *E. faecalis* parece ser muy resistente a los medicamentos utilizados durante el tratamiento y se sabe que resiste el efecto antibacteriano del apósito con hidróxido de calcio (15).

El principal objetivo del endodoncista es disminuir la carga bacteriana del diente tratado a lo largo de diferentes procesos del tratamiento de conductos, ya que, incluso después del desbridamiento, la conformación y la irrigación de los conductos con agentes antimicrobianos, no es posible eliminar completamente los microorganismos del sistema de conductos radiculares. En este sentido, el sellado es una parte esencial del tratamiento para el éxito a largo plazo, por lo que el uso de cementos selladores con actividad antimicrobiana podría ayudar a lograr este objetivo (17).

2.5. CEMENTOS SELLADORES

Los cementos selladores del conducto radicular son de suma importancia, ya que estos sellaran cualquier espacio existente entre la pared dentinaria y el material obturador. Los cementos selladores también llenan los huecos y las irregularidades que presenta el sistema de conductos radiculares, tales como conductos laterales y accesorios, y los

espacios que quedan entre las puntas de gutapercha usadas en la técnica de compactación vertical (18). Entre los factores que intervienen en la obturación, los cementos endodónticos desempeñan un papel crucial, dado que este material seguirá actuando y protegiendo el periodonto apical contra los organismos microbianos presentes (19). De acuerdo con los postulados de Grossman, definidos por primera vez en el año de 1988, se describió que los requisitos ideales de un cemento sellador son: la habilidad para adherirse a la superficie radicular tridimensionalmente, no debe ser citotóxico y debe ser bien tolerado por los tejidos periradiculares, que tenga buena estabilidad dimensional, que no sea reabsorbible, insoluble en tejidos orales, soluble con disolventes, fácil de manipular, buena radiopacidad, que no produzca corrosión, proveer un sellado hermético, no pigmentar la estructura, y ser bacteriostático o bactericida (20).

Existen diferentes tipos de cementos selladores de conductos radiculares y se pueden clasificar en función de sus principales componentes: cementos a base de óxido de zinc y eugenol, cementos a base de hidróxido de calcio, cementos a base de ionómero de vidrio, cementos a base de silicona, cementos a base de resina y cementos biocerámicos con la finalidad de mejorar su capacidad de sellado, siendo sometidos a diferentes pruebas en donde se evalúan su microfiltración, ya sea a través de la penetración con tintes, radioisótopos con aire comprimido, bacterias entre otros (21,22).

2.5.1. CEMENTO A BASE DE ÓXIDO DE ZINC Y EUGENOL

Es un compuesto inorgánico con propiedades antibacterianas, astringente y de protección ultravioleta, resulta eficaz como fármaco antimicrobiano, es ampliamente usado para tratar una variedad de condiciones en la piel. En odontología es utilizado con eugenol, formando así una mezcla que constituye quizás el más antiguo de los cementos dentales, por sus propiedades sedantes y paliativas del dolor pulpar (23). La popularidad de los cementos selladores a base de óxido de zinc y eugenol se debe a su excelente plasticidad, consistencia, eficacia selladora y alteraciones volumétricas pequeñas después de fraguar. El vehículo de mezcla para estos selladores es el eugenol; el polvo contiene óxido de zinc en finas partículas para incrementar la fluidez del cemento, es radiopaco y el tiempo de manipulación se ajusta para permitir un adecuado tiempo de

trabajo. Estos cementos poseen un efecto antiséptico, producen irritación moderada a severa en los tejidos periapicales, por lo que su uso debe ser considerado cuidadosamente (24).

Un ejemplo de un cemento sellador a base de óxido de zinc y eugenol es el cemento Pulp canal sealer (Figura 4) de la casa comercial de Kerr, su fórmula no es irritante ni radiopaca y ofrece un tiempo de trabajo de más de 6 h (25).



Figura 4. Cemento sellador Pulp Canal Sealer.

En la figura se observa el cemento Pulp Canal Sealer de la casa comercial Kerr, que es un sellador con eugenol y óxido de zinc con una base en polvo y un catalizador líquido (25).

2.5.2. CEMENTO A BASE DE HIDRÓXIDO DE CALCIO

Los cementos que contienen hidróxido de calcio tienen propósito de mejorar las propiedades biológicas y garantizar un buen sellado de los sistemas de conductos radiculares ya que previenen la regeneración de las bacterias residuales, controlan la entrada de bacterias dentro del conducto y estimulan la formación de tejidos de reparación en la región periapical (26). Además, otra de las ventajas del hidróxido de calcio es capaz de detener el proceso de reabsorción radicular, ya que cuando está dentro del conducto radicular absorbe las moléculas de agua, lo que favorece su penetración no solo en los conductos accesorios sino también en los túbulos dentinarios (27).

Un ejemplo de este tipo de cementos selladores es el cemento Sealapex (de la casa comercial Kerr endodontics) (Figura 5), se presenta en dos pastas, una base y un catalizador, que es un sellador original sin eugenol del conducto radicular basado en hidróxido de calcio, que favorece la cicatrización rápidamente y la formación de tejido duro (28).



Figura 5. Cemento sellador Sealapex.

En la figura se muestra un cemento sellador a base de hidróxido de calcio (28).

2.5.3. CEMENTOS A BASE DE IONÓMERO VITREO

Los cementos de ionómero de vidrio se desarrollaron a finales de la década de 1960 y eran el producto de una reacción ácido-base entre un polvo de vidrio de silicato de aluminio básico y ácido policarboxílico en presencia de agua. Desde entonces, se han introducido numerosas modificaciones y mejoras en la formulación original (29).

Un ejemplo de los cementos selladores a base de ionómero de vidrio, es el cemento endodóntico Ketac-Endo (Figura 6). Que es un tipo relativamente nuevo de cemento de ionómero de vidrio para uso endodóntico, se diferencia de los cementos de ionómero de vidrio estándar por tener un tiempo de trabajo más largo, mayor radiopacidad y una consistencia tixotrópica que le permite fluir en el conducto radicular (30).



Figura 6. Cemento sellador Ketac-Endo.

En la figura se observa el cemento sellador Ketac-Endo (30).

2.5.4. CEMENTOS A BASE DE RESINA

Este tipo de cementos selladores endodónticos del sistema de conductos radiculares cuentan con una buena aceptación por sus propiedades y están basados en la química de las resinas, y por lo tanto presentan una buena adherencia a las paredes del interior del conducto radicular (31).

Como se mencionó anteriormente por presentar un ejemplo de los cementos a base de resina, en el mercado se puede encontrar el cemento sellador AH Plus (Figura 7). El sellador de conductos radiculares AH Plus es una fórmula a base de resina con excelente radiopacidad, baja contracción, baja solubilidad y excelentes características de fluidez. Presenta un sistema de mezcla 1:1, pasta a pasta, para una preparación rápida y fácil y menos residuos. AH Plus es biocompatible y no contiene plata. El sellador AH Plus ofrece un tiempo de trabajo de 4 h y un tiempo de fraguado de 8 h. Sus propiedades termoplásticas facilitan su eliminación, tanto si se utilizan productos químicos como un taladro (32).



Figura 7. Cemento AH Plus

En la figura se observa el cemento sellador a base de resina AH Plus (32).

2.5.5. CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS

Los biocerámicos (BC) son materiales biocompatibles, no tóxicos, estables en entornos biológicos, no se contraen y más bien se expanden ligeramente tras la finalización del proceso de fraguado. Son capaces de formar hidroxiapatita en presencia de agua, siendo un material no sensible en presencia de humedad. En endodoncia, los materiales biocerámicos fueron introducidos en la década del 90 con el desarrollo y descripción del Agregado de Trióxido Mineral (MTA), un derivado del cemento de Portland. El tiempo de fraguado es de 40-120 minutos (fraguado inicial 40-50 minutos y fraguado final 120-170 minutos, no incluyendo a TheraCal, que es fotopolimerizado en 0.3 minutos y Biodentine que fragua en 9 minutos. La reacción de fraguado variará con la humedad disponible (33). Son materiales biocompatibles debido a que logran una adecuada y ventajosa respuesta del huésped en aplicaciones clínicas específicas. La biocompatibilidad de los BC se atribuye a la presencia de fosfato de calcio, que también es el principal componente inorgánico de los tejidos duros. Los BC son inocuos para los tejidos y permiten la proliferación de fibroblastos y osteoblastos en su superficie (33).

Un ejemplo de cementos biocerámicos es el cemento sellador EndoSequence BC Sealer (BRASSELER, Savannah, GA, USA) (Figura 8), que ha sido diseñado como un cemento hidráulico de silicato cálcico no tóxico y fácil de usar como sellador endodóntico. Entre

las ventajas cemento Endosequence BC Sealer se encuentran la mayor comodidad y facilidad de administración, y la ventaja de utilizar el agua inherente a los túbulos dentinarios para impulsar la reacción de hidratación (del material), acortando así el tiempo de fraguado. La dentina se compone de aproximadamente un 20% de agua y es esta agua la que provoca el fraguado del material. Además del ahorro de tiempo y la comodidad añadida, uno de los principales problemas asociados a la mezcla de cualquier cemento endodóntico es una mezcla insuficiente y no homogénea. Una mezcla de este tipo podría, en última instancia, comprometer los beneficios del material. Por lo tanto, EndoSequence BC Sealer se ha diseñado como un sellador biocerámico premezclado que endurece sólo cuando se expone a un entorno húmedo como los túbulos dentinarios (34).



Figura 8. Cemento biocerámico.

En la figura se muestra el cemento sellador EndoSequence BC Sealer (34).

2.6. BIOCERÁMICOS

Los materiales biocerámicos en endodoncia permiten la resolución de casos en que los materiales utilizados previamente no tenían buen pronóstico. Al ser biocompatibles con los tejidos humanos, inducen su reparación, generando aposición de hidroxiapatita, mediante el proceso de hidratación del silicato de calcio. Las propiedades que tienen les brindan excelentes prestaciones clínicas y por lo tanto son ideales para aplicar dentro y fuera del conducto radicular. Las presentaciones comerciales pueden ser premezcladas

o en dos fases que se mezclan, variando su composición, consistencia, tiempos de trabajo y fraguado (35) .

2.6.1. CEMENTO BIOCERÁMICO CERASEAL METABIOMED

CeraSeal (MetaBiomed, Colmar, Pennsylvania) (Figura 9). CeraSeal es un sellador biocerámico premezclado que incluye silicato tricálcico (20-30%) y silicato dicálcico (1-10%) como componentes bioactivos, y aluminato tricálcico (1-10%) y dióxido de circonio (45-50%) (35).



Figura 9. Cemento biocerámico CeraSeal.

Prestación del cemento biocerámico de la casa comercial METABIOMED (35).

2.6.2. CEMENTO BIOCERÁMICO EDGEBIOCERAMIC SEALER

EdgeBioceramic Sealer (Figura 10), presenta una fórmula única, es un biocerámico sin resina que lo hace altamente biocompatible e hidrófilo liberando activamente iones de calcio al momento de su uso y mezclado adecuado. A diferencia de los cementos selladores que se utilizaban, este cemento endodóntico no se contrae, por lo que no es del todo necesario compactar la gutapercha (31).



Figura 10. Cemento EdgeBioceramic Sealer.

Presentación del cemento sellador biocerámico de la casa comercial EdgeEndo (31).

2.6.3. CEMENTO BIOCERÁMICO NEOSEALER FLO

NeoSEALER Flo (Avalon Biomed) (Figura 11) es un sellador biocerámico premezclado constituido por silicato tricálcico (< 25%) y silicato dicálcico (< 10%) como componentes bioactivos, y aluminato cálcico (< 25%), óxido de aluminio cálcico (grossita) (< 6%), aluminato tricálcico (< 5%) y tantalita (50%) como radiopacificante. El fabricante también indica trazos de sulfato de calcio (< 1%) (35).



Figura 11. Cemento biocerámico NeoSEALER Flo.

Presentación del cemento biocerámico Neo SEALER Flo de la casa comercial Avalon Biomed (35).

II. INTRODUCCIÓN

Actualmente, existen varios tipos de selladores endodónticos con diferentes composiciones y con diferentes capacidades antimicrobianas disponibles en el mercado, por lo cual, el objetivo de este estudio es utilizar los cementos biocerámicos CeraSeal, EdgeBioCeramic Sealer y NeoSEALER Flo para poder compararlos en cuanto a su eficacia antibacteriana y determinar qué cemento es más efectivo contra la bacteria *E. faecalis*.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el presente proyecto se plantea un estudio sistemático para evaluar la actividad antibacteriana de los cementos biocerámicos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSEALER Flo, con el fin de determinar posibles diferencias entre ellos en términos de la actividad referida.

IV. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de cementos selladores con actividad antibacteriana es de vital importancia en el área de la Endodoncia, debido a la necesidad de implementar tratamientos en los que se erradique por completo o al menos se disminuya de manera ostensible el porcentaje de bacterias remanentes en el conducto después del tratamiento endodóntico. Con base lo anterior, en el presente proyecto se avaluó la actividad antibacteriana de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSEALER Flo contra la bacteria *E. faecalis* por ensayos *in vitro*. Para nuestro conocimiento, no existe evidencia a la fecha de la comparación directa de la actividad antibacteriana de los cementos bioceámicos objeto de estudio.

V. HIPÓTESIS

5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La caracterización biológica planteada en este trabajo de investigación nos permitirá identificar diferencias si las hay en la actividad antibacteriana de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioCeramic Sealer y NeoSEALER Flo contra la bacteria *E. faecalis*.

5.2. HIPÓTESIS NULA (H0)

No existirá diferencia estadísticamente significativa al comparar la actividad antibacteriana de los cementos objeto de estudio contra *E. faecalis*, con un nivel de confianza del 95%.

5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1)

Existirá diferencia estadísticamente significativa en la actividad antibacteriana de al menos uno de los cementos selladores objeto de estudio contra *E. faecalis*, con un nivel de confianza del 95%.

VI. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antibacteriana de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSEALER Flo contra *E. faecalis* a través de ensayos *in vitro*.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la actividad antibacteriana de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y Neosealer Flo a través de ensayos de difusión en agar por 24, 48 y 72 h.
2. Determinar la actividad antibacteriana de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y Neosealer Flo a través de ensayos de difusión en caldo por 24 h.
3. Llevar a cabo análisis estadístico de los resultados obtenidos.

VII. VARIABLES

7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

1. Tipo de cemento endodóntico (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSEALER Flo).
2. Tiempo (24, 48 y 72 h).

7.2. VARIABLES DEPENDIENTES

1. Halo de inhibición (mm).
2. Porcentaje de bacterias en el caldo.

7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES

Se evaluó la actividad antibacteriana de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, Neo SEALER Flo, empleando como blancos agua estéril, gentamicina y ampicilina. La actividad antibacteriana se evaluó a través de ensayos de difusión en agar y difusión en caldo. Para ambos, ensayos las muestras objeto de estudio fueron dispensadas en discos de papel filtro estéril de 6 mm de diámetro, mismos que fueron puestos en contacto directo sobre la superficie del agar inoculado con *E. faecalis* (ensayo de difusión en agar) e inmersos en el seno de caldo de cultivo BHI inoculado con *E. faecalis* (ensayo de difusión en caldo). Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente por Análisis de la Varianza de una vía (ANOVA) con post hocs Tukey y Bonferroni, considerando un intervalo de confianza del 95%.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental (*in vitro*)

8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

Para evaluar la actividad antibacteriana se realizaron dos ensayos: i) ensayo de difusión en agar y ii) ensayo de difusión en caldo.

Para el ensayo de difusión en agar se evaluaron tres grupos y dos controles (n = 3):

Grupo 1: Cemento sellador CeraSeal.

Grupo 2: Cemento sellador EdgeBioceramic Sealer.

Grupo 3: Cemento NeoSEALER Flo.

Control 1: Agua estéril

Control 2: Gentamicina

Para el ensayo de difusión en caldo se evaluaron tres grupos, tres controles y seis blancos (n = 3):

Grupo 1: Cemento sellador CeraSeal en caldo de cultivo inoculado.

Grupo 2: Cemento sellador EdgeBioceramic Sealer en caldo de cultivo inoculado.

Grupo 3: Cemento sellador NeoSEALER Flo en caldo de cultivo inoculado.

Control 1: Agua estéril en caldo de cultivo inoculado.

Control 2: Gentamicina en caldo de cultivo inoculado.

Control 3: Ampicilina en caldo de cultivo inoculado.

Blanco 1: Cemento sellador CeraSeal en caldo de cultivo estéril.

Blanco 2: Cemento sellador EdgeBioceramic Sealer en caldo de cultivo estéril.

Blanco 3: Cemento NeoSEALER Flo en caldo de cultivo estéril.

Blanco 4: Agua estéril en caldo de cultivo estéril.

Blanco 5: Gentamicina en caldo de cultivo estéril.

Blanco 6: Ampicilina en caldo de cultivo estéril.

8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL

Los materiales utilizados en este estudio fueron los cementos biocerámicos premezclados Ceraseal de la marca comercial METABIOMED (Cheongju, Corea), el cemento EdgeBioceramic Sealer de la casa comercial Edge Endo (Albuquerque, New México), el cemento sellador NeoSEALER Flo de la marca comercial Avalon Biomed (Houston, Texas). Para los controles se utilizó agua destilada estéril y los antibióticos sulfato de gentamicina de la casa comercial CDH (Estados Unidos) y ampicilina en discos cargados con 10 mcg de la marca BIO-RAD (Francia). Las muestras se dispensaron en discos de papel de filtro cualitativo 413 de 6 mm de diámetro de la marca VWR. El microorganismo utilizado fue una cepa clínica de *E. faecalis* donada por Laboratorio Zapata (Tijuana, México). Como medio de conservación bacteriano se empleó Agar de Soya Trypticaseína (TSA, por sus siglas en inglés) de la marca TM Media. Para las pruebas de difusión en agar se utilizó el agar Müeller Hinton de la casa comercial BD Bioxin (México) en placas Petri de 90 x 15 mm. Para las pruebas de difusión en caldo se empleó el medio de cultivo Infusión Corazón Cerebro (BHI, por sus siglas en inglés) de la marca MCD Lab (México). Se empleó una microbalanza analítica modelo BL 150 de la marca Sartorius (Estados Unidos), un agitador digital vórtex de la marca VWR TROEMNER (Estados Unidos). Para incubar la cepa de *E. faecalis* en presencia de las muestras de interés se empleó una incubadora PRECISION (Virginia, Estados Unidos). Para medir el halo de inhibición se empleó un vernier digital marca Truper (México). Toda la experimentación se llevó a cabo en condiciones de esterilidad en una cabina de flujo laminar vertical LABCONCO PURIFIER CLASS II BIOSAFETY CABINET (Estados Unidos). Para la caracterización por UV se empleó un espectrofotómetro Genesys10S

UV-Vis y cubetas de vidrio de 1/2" de diámetro de la marca Thermo Scientific (Estados Unidos). Adicionalmente, se utilizaron pinzas de punta fina de la marca comercial Fafeicy, mechero de alcohol metálico, asa de siembra metálica, hisopos estériles de la marca PROTEC (México) y jeringas de insulina 27G x 13 mm de 1 ml de la marca Diabelab (México), entre otros.

8.4. METODOLOGÍA

8.4.1. Preparación de las muestras

Los cementos biocerámicos premezclados objeto de estudio fueron depositados en el interior de jeringas de insulina para dispensar 20 μ l de cada muestra. Los cementos fueron dispensados en discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro empleando una punta aplicadora de cemento. Para la preparación de los Controles 1 y 2, se dispensaron 20 μ l de agua estéril y solución de gentamicina (10 ug/ml), respectivamente, sobre los discos de papel filtro (Figura 12).

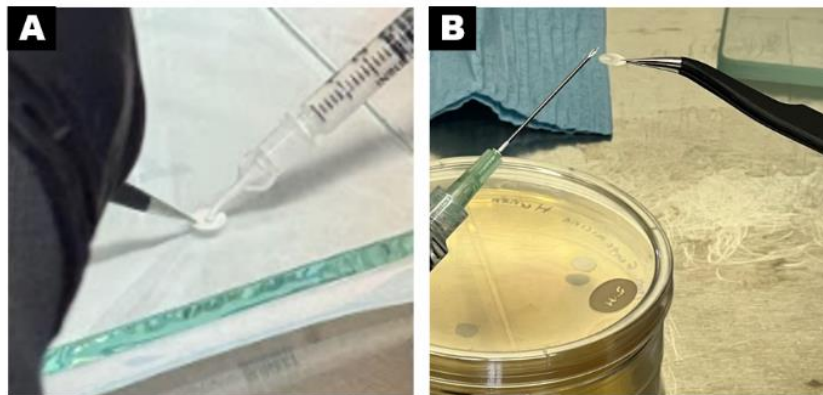


Figura 12. Colocación de materiales objeto de estudio en discos de papel

En la figura se muestra el proceso de depósito de las muestras en los discos de papel filtro: A) los cementos objeto de estudio y B) las soluciones de agua estéril / ampicilina.

8.4.2. Preparación de la suspensión madre de bacterias

Se preparó una suspensión madre de *E. faecalis* a partir de una placa de TSA que fue sembrada con el microorganismo con 24 h de antelación. Para ello, con un asa de siembra estéril se tomó la cepa de *E. faecalis* y se depositó en 10 ml de solución salina estéril (0.9%); después la suspensión se homogeneizó empleando un agitador Vórtex. La suspensión madre de bacterias fue ajustada a una turbidez equivalente a 0.5 de la escala de McFarland, que corresponde a 0.5×10^8 UFC/ml (36). La absorbancia de la muestra fue medida con un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis a una longitud de onda de 540 nm (Figura 13).

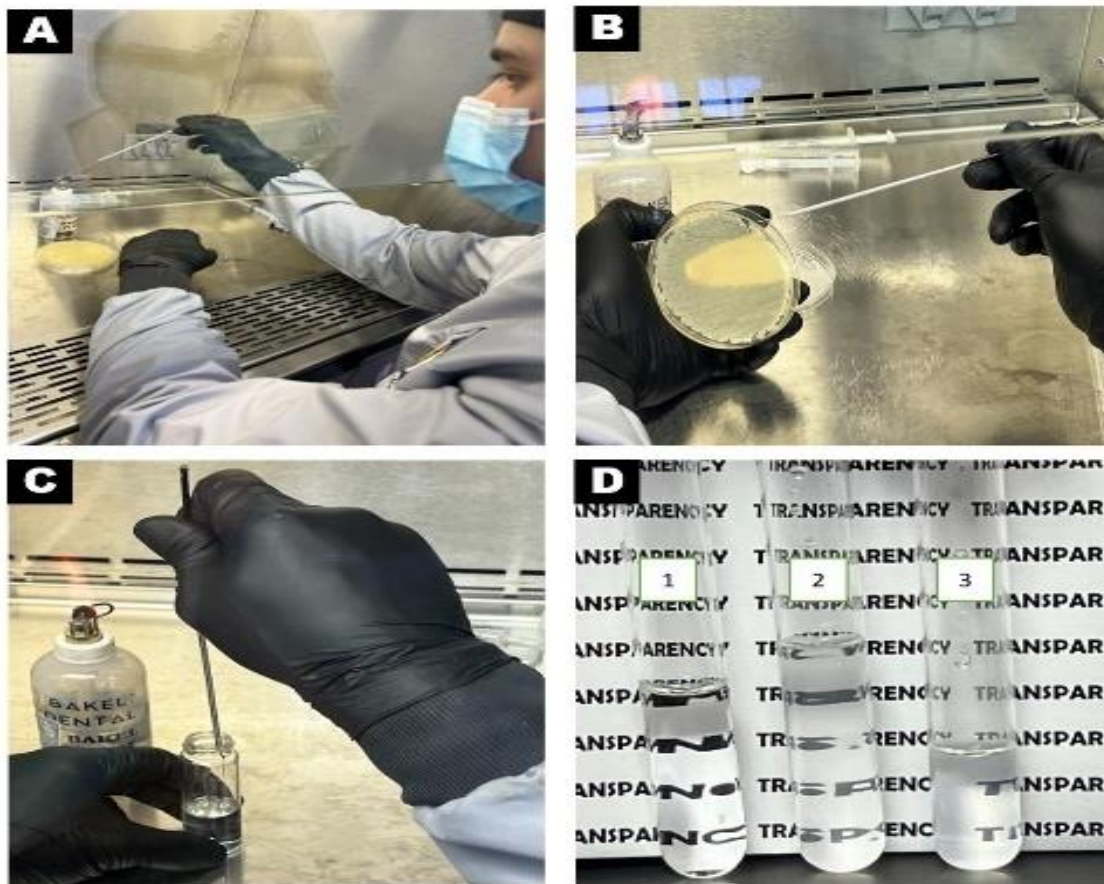


Figura 13. Preparación de la suspensión madre de *E. faecalis*

En la figura se observa A) la esterilización del asa bacteriológica, B) la toma de *E. faecalis* de la placa de agar TSA con asa bacteriológica, C) la inoculación de solución salina con el microorganismo y D) la comparación visual de la turbidez de agua estéril, solución 0.5 de Mcfarland y suspensión madre de bacterias (de izquierda a derecha respectivamente).

8.4.3. Ensayo de difusión en agar

Para el ensayo de difusión en agar, las placas de Petri con agar Müller Hinton fueron inoculadas con *E. faecalis* empleando un hisopo estéril impregnado con ca. 150 μ l de la suspensión madre (8.4.2. Preparación de la suspensión madre de bacterias). El hisopo se deslizó suavemente sobre la superficie del agar, con movimientos de izquierda a derecha, hasta cubrir la totalidad de la superficie; el procedimiento fue realizado en tres direcciones (con una rotación de 60° para cambiar de dirección). Una vez inoculado el agar con *E. faecalis*, los discos de papel filtro con las muestras objeto de estudio fueron colocados asegurando el íntimo contacto de las muestras sobre la superficie del agar (Figura 14). Posteriormente, las placas de Petri fueron incubadas hasta 72 h a 37 °C y 100% de humedad. Finalmente, el halo de inhibición de las muestras fue medido a los tiempos de 24, 48 y 72 h empleando un calibrador vernier digital (Figura 15).

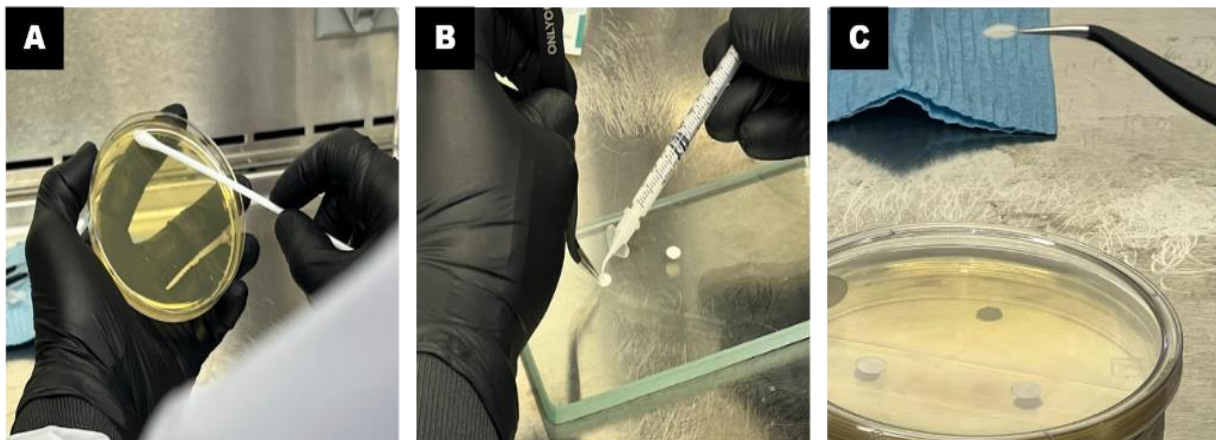


Figura 14. Preparación de muestras para ensayo de difusión en agar

En la figura se observa A) la inoculación de las placas de agar Müller Hinton con E. faecalis, B) el depósito de cemento biocerámico sobre el papel de filtro empleando una jeringa hipodérmica con punta aplicadora de cemento y C) la colocación de la muestra con pinzas de punta fina sobre la superficie del agar inoculado.

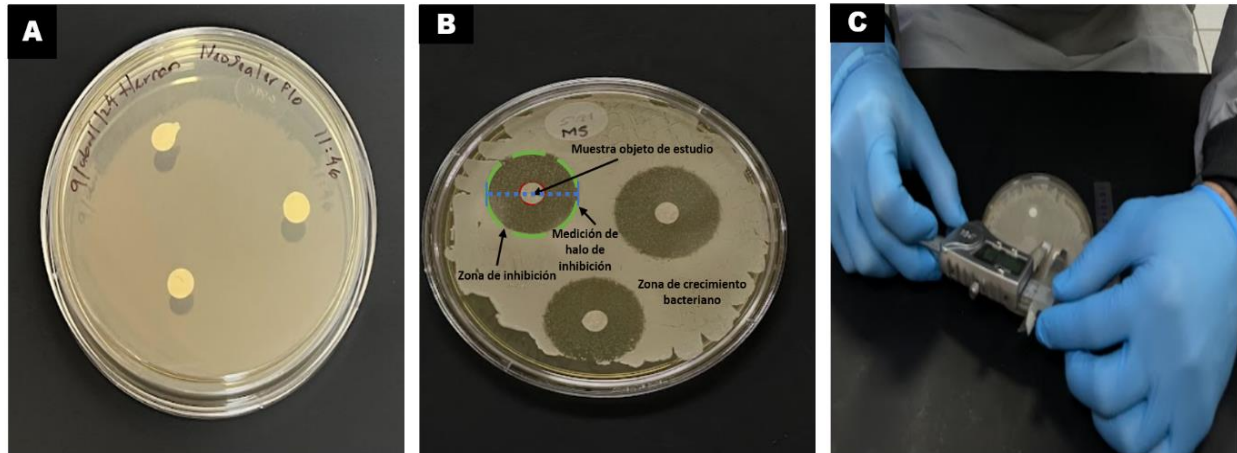


Figura 15. Medición de los halos de inhibición

En la figura se observan A) los discos de papel colocados en las placas de agar, B) el esquema que se utilizó para medir el halo de inhibición dado por los cementos objeto de estudio y C) el uso de un vernier digital para una medición más precisa de zona de inhibición dado por los cementos objeto de estudio.

8.4.4. Ensayo de difusión en caldo

Para el ensayo de difusión en caldo, las muestras objeto de estudio fueron dispensadas en discos de papel filtro (8.4.1. Preparación de las muestras). Después, los discos con las muestras fueron depositados en el interior de tubos de vidrio para hemólisis con 5 ml de caldo BHI estéril. Posteriormente, el caldo de cultivo fue inoculado con 10 μ l de suspensión madre de *E. faecalis* (8.4.2. Preparación de la suspensión madre de bacterias) empleando una micropipeta (Figura 16). Posteriormente, los tubos fueron tapados con torundas de algodón estéril e incubados durante 24 h a 37 °C y 100% de humedad.

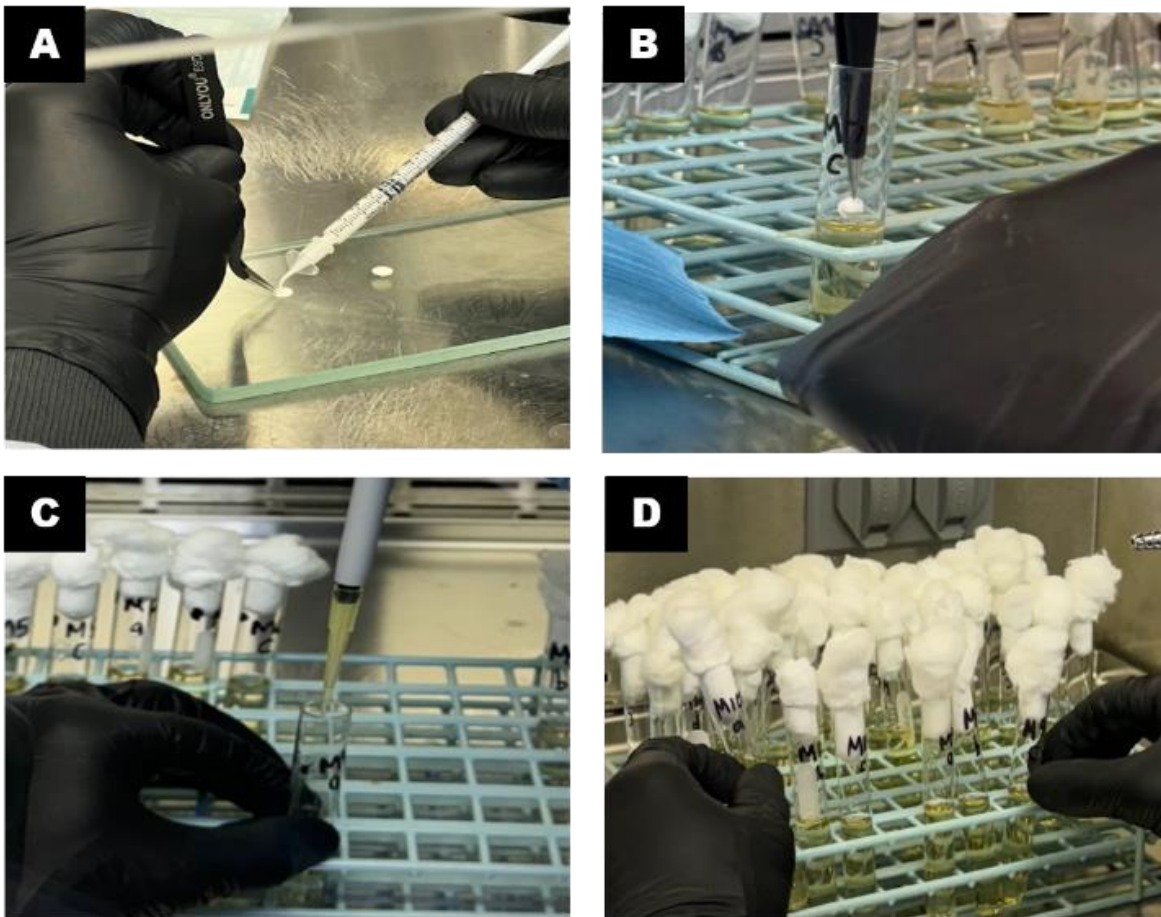


Figura 16 Preparación de muestras para ensayo de difusión en caldo

*En la figura se observa A) el depósito de cemento biocerámico sobre el papel de filtro empleando una jeringa hipodérmica con punta aplicadora de cemento y B) la colocación de la muestra con pinzas de punta fina dentro del tubo con caldo BHI, C) la inoculación del caldo BHI con *E. faecalis* y D) los tubos de vidrio con las muestras tapados con torundas de algodón.*

Tras su incubación por 24 h en condiciones de cultivo bacteriano, todos los tubos de hemólisis (incluyendo grupos, controles y blancos) fueron puestos a contraluz para evaluar cambios en la turbidez de cada caldo de cultivo y se adquirieron fotografías (caracterización a través de ensayos organolépticos). Posteriormente, se extrajeron 2 ml de caldo de cultivo de cada tubo de hemólisis y fueron depositados en el interior de una cubeta de vidrio. La absorbancia de cada muestra fue medida con un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis a una longitud de onda de 540 nm. Previo a su medición, cada muestra fue homogeneizada por aspiración y depósito suave con una micropipeta,

cuidando que no se formaran burbujas (Figura 17). El porcentaje de *E. faecalis* presente en cada medio de cultivo fue calculado a través de la siguiente expresión:

Ecuación 1. Bacterias en el caldo (%)

$$\text{Bacterias en el caldo (\%)} = \frac{Am}{AT} * 100$$

Donde: **Am** representa la absorbancia promedio de cada muestra de interés y **AT** representa la absorbancia promedio de control.



Figura 17. Procesamiento de las muestras

En la figura se muestra A) Comparación de la turbidez de las muestras (de izquierda a derecha: agua, solución 0.5 McFarland y suspensión madre de bacterias), B, C) Determinación de absorbancia por espectroscopia de UV-vis.

8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo empleando el método de Análisis de la Varianza (ANOVA) de una vía, seguido de las pruebas post hoc de Tukey y Bonferroni. Se estableció un nivel de confianza del 95% para todas las pruebas.

IX. RESULTADOS

9.1. ENSAYOS DE DIFUSIÓN EN AGAR

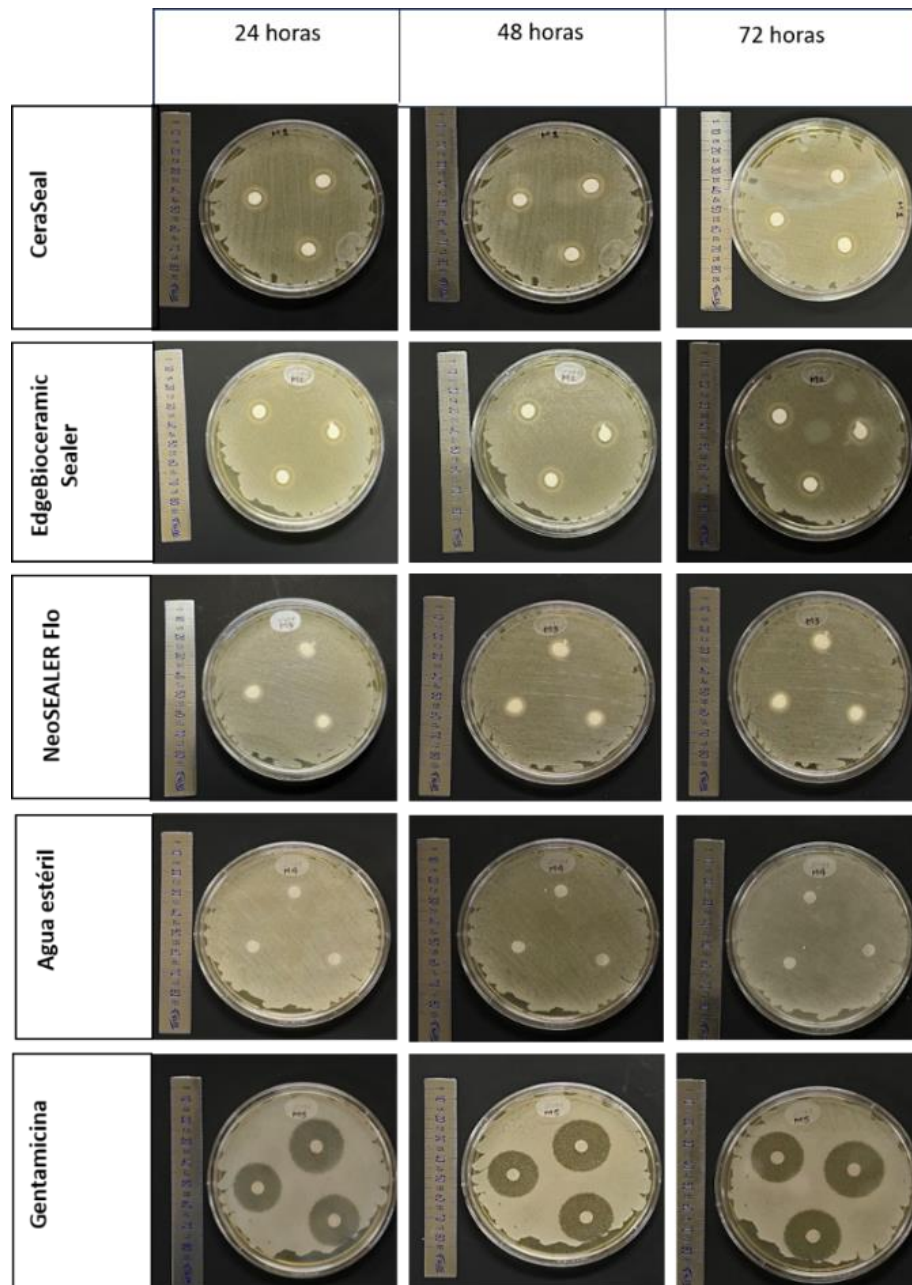


Figura 18. Ensayo de difusión en agar después de su incubación por 24, 48 y 72 h.

En la figura se observan las cajas de Petri de agar Müeller-Hinton inoculadas con *E. faecalis* en las que se colocaron discos de papel impregnados con las muestras de interés (grupos 1-3 y controles 1 y 2).

En la Figura 18 se muestra la actividad antibacteriana de los cementos biocerámicos objeto de estudio contra *E. faecalis* (halo de inhibición, 24, 48 y 72 h) a partir de ensayos de difusión en agar. Se observa que los cementos biocerámicos objeto de estudio presentaron actividad antibacteriana moderada.

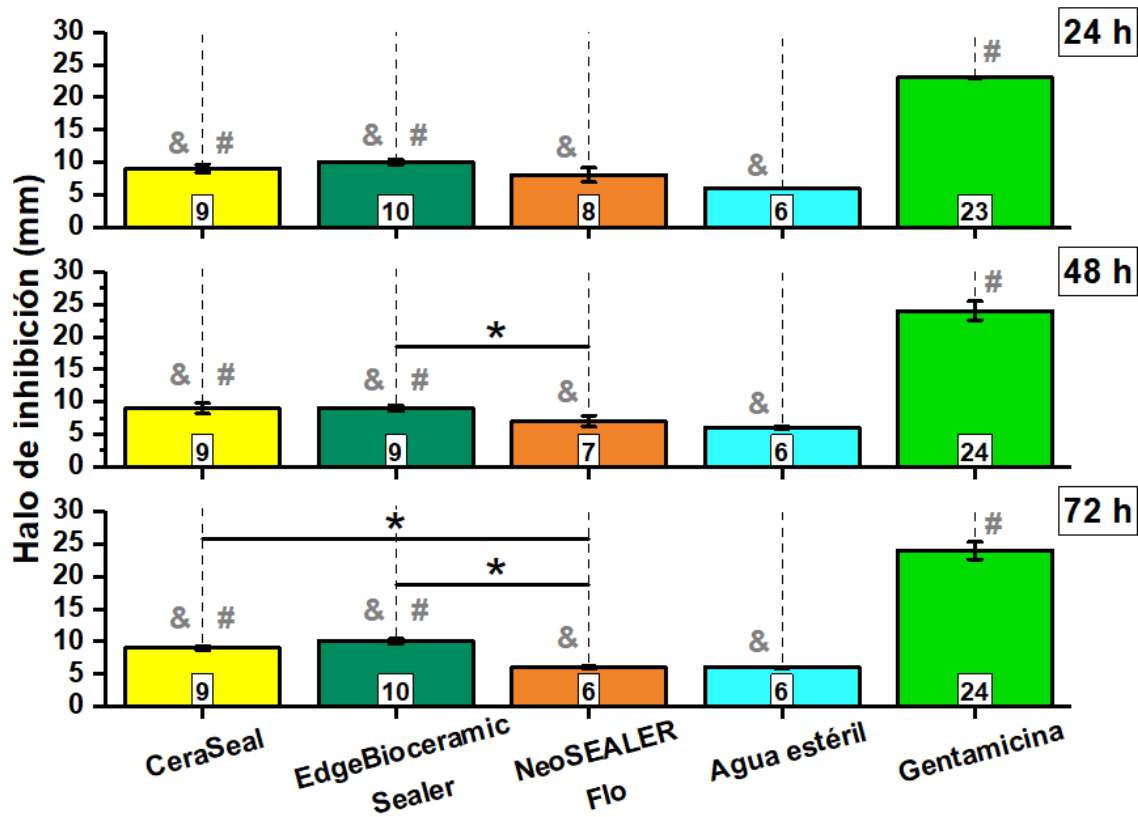


Figura 19. Halo de inhibición bacteriana tras la incubación de las muestras en contacto con las bacterias por 24, 48 y 72 h.

Las columnas representan el promedio de los resultados obtenidos y las barras verticales la desviación estándar ($n = 3$). Se estudiaron como blancos de comparación agua estéril y gentamicina. Los símbolos & y # denotan diferencia estadísticamente significativa con respecto a gentamicina y agua estéril, respectivamente; el símbolo * denota diferencia estadísticamente significativa entre cada par de muestras señaladas; $p < 0.05$ en todos los casos.

La Figura 18 muestra la actividad antibacteriana de los cementos biocerámicos estudiados, obtenida a partir de ensayos de contacto directo contra *E. faecalis* en agar por 24, 48 y 72 h. Se observa que los cementos que exhibieron actividad antibacteriana fueron CeraSeal y EdgeBioceramic Sealer únicamente, con halos de inhibición de entre 9 y 10 mm y diferencia estadísticamente significativa con respecto al control (negativo) de agua estéril ($p < 0.05$), sin influencia aparente del tiempo. No obstante, esta actividad demostró ser moderada en todos los casos con respecto al control (positivo) de gentamicina; mismo que demostró halos de inhibición de entre 23 y 24 mm, con diferencia estadísticamente significativa con respecto a todos los cementos evaluados ($p < 0.05$), igualmente sin influencia aparente con la evolución del tiempo.

Asimismo, al comparar los cementos entre sí, se observó diferencia estadísticamente significativa entre la actividad antibacteriana de los cementos EdgeBioceramic Sealer y NeoSEALER Flo (48 h), así como CeraSeal y NeoSEALER Flo (72 h).

9.2. ENSAYOS DE DIFUSIÓN EN CALDO

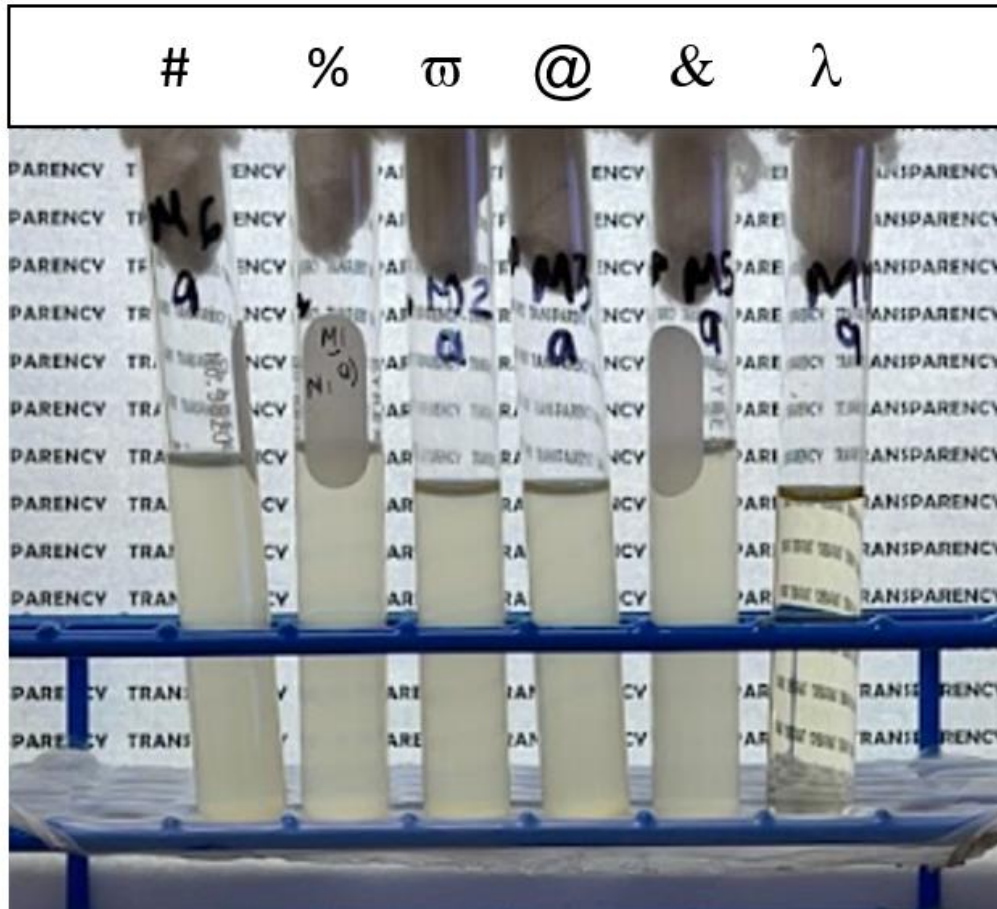


Figura 20. Fotografías representativas del control 1, grupos 1-3, control 2 y blanco 4 objeto de estudio después de 24 h de incubación contra *E. faecalis*.

Asignación de los símbolos en la figura a cada muestra: Agua estéril en caldo de cultivo inoculado (#), cemento sellador CeraSeal en caldo de cultivo inoculado (%), cemento sellador EdgeBioceramic Sealer en caldo de cultivo inoculado (π), cemento sellador NeoSEALER Flo en caldo de cultivo inoculado (@), gentamicina en caldo de cultivo inoculado (&) y, agua esteril en caldo de cultivo esteril (λ)

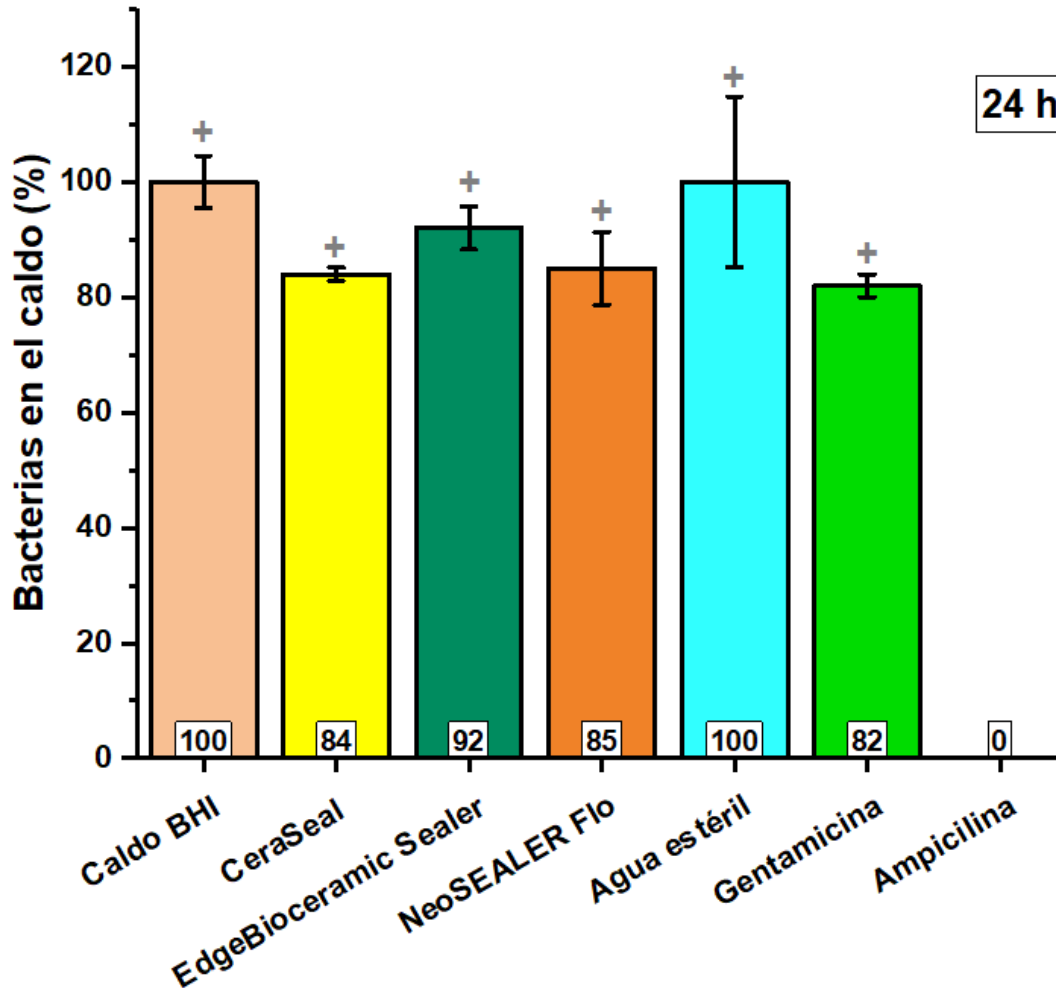


Figura 21 Actividad antibacteriana de los cementos biocerámicos a partir de ensayos de difusión en caldo contra *E. faecalis*.

Las columnas representan el promedio de los resultados obtenidos y las barras verticales la desviación estándar ($n = 3$). El símbolo (+) denota diferencia estadísticamente significativa con la ampicilina ($p < 0.05$).

En la Figura 21 se muestra la actividad antibacteriana de los cementos biocerámicos, a partir de ensayos de difusión en caldo contra *E. faecalis* a 24 h. A diferencia de los resultados obtenidos por el ensayo de contacto directo (halo de inhibición), ninguno de los cementos exhibió actividad antibacteriana, demostrando porcentajes de inhibición de bacterias en el caldo estadísticamente equivalentes a los de los controles de caldo BHI y agua estéril (controles negativos; $p > 0.05$) e igualmente equivalentes entre sí ($p >$

0.05). Con respecto a los controles de antibióticos (controles positivos): el control de gentamicina tampoco exhibió actividad antibacteriana en este ensayo ($p > 0.05$ con respecto a los cementos y a los controles negativos), mientras que el control de ampicilina sí demostró actividad antibacteriana (porcentaje de inhibición bacteriana de ca. 100%; $p < 0.05$ con respecto a todas las muestras estudiadas).

Con base en los resultados obtenidos, se confirma la hipótesis alternativa (H1) de este proyecto de investigación.

X. DISCUSIÓN

Un sellador endodóntico ideal debe ser biocompatible y dimensionalmente estable; debe sellar bien y tener un efecto antimicrobiano fuerte y duradero. La actividad antibacteriana de los selladores podría ayudar a eliminar los microorganismos residuales que han sobrevivido a la instrumentación quimicomecánica y mejorar así la tasa de éxito del tratamiento endodóntico (37).

Abduljabbar SM y cols. se encargaron de evaluar el efecto antimicrobiano de los cementos biocerámicos Endosequence BC Sealer, CeraSeal y BioRoot RCS contra *E. faecalis*, utilizando como grupo de control el cemento a base de resina epóxica AH26. Se utilizaron 20 placas de agar conteniendo *E. faecalis*. Se prepararon los inóculos de *E. faecalis* recogiendo de 4 a 5 colonias con un asa bacteriológica, las cuales fueron cultivadas en un medio de agar infusión cerebro corazón (BHI). Los resultados mostraron que el cemento BioRoot RCS tuvo el mayor efecto antibacteriano contra *E. faecalis*, seguido de los cementos Endosequence BC Sealer, CeraSeal y finalmente AH26. En suma, este trabajo demostró que los cementos biocerámicos desplegaron una mayor actividad antibacteriana en comparación con el cemento a base de resina epóxica (38).

En otro artículo, Dagna A y cols. compararon las propiedades antibacterianas de tres cementos selladores, en los cuales se encuentra el cemento CeraSeal, BioRoot RCS, FillRoot ST, WellRoot PT, seleccionando el cemento Pulp Canal Sealer EWT, a base de óxido de zinc y eugenol como grupo de control. Fue un estudio *in vitro* contra las bacterias de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus sanguis*. Se cultivaron las bacterias en BHI y se incubaron durante 16 h a 37 °C en condiciones aeróbicas. Los resultados demostraron que todos los cementos demostraron actividad inhibitoria contra todas las cepas; sin embargo, FillRoot ST y BioRoot RCS tuvieron mayor actividad antibacteriana después de las 48 h. Según lo estipulan los autores, la actividad antibacteriana de los cementos biocerámicos está relacionada con su pH alcalino (39).

XI. CONCLUSIONES

1.- Los cementos biocerámicos CeraSeal y EdgeBioceramic Sealer presentaron actividad antibacteriana moderada contra *E. faecalis* en ensayos de contacto directo, con diferencia estadísticamente significativa con respecto al control negativo de agua estéril y el control positivo de gentamicina, en los tres puntos de tiempo estudiados ($p < 0.05$, con respecto a ambos controles).

2.- La actividad antibacteriana del cemento NeoSEALER Flo se validó como nula a través del ensayo de contacto directo, sin diferencia estadísticamente significativa con respecto al control de agua estéril (control negativo; $p > 0.05$).

3.- Se observó diferencia estadísticamente significativa entre la actividad antibacteriana de los cementos EdgeBioceramic Sealer y NeoSEALER Flo ($p < 0.05$; 48 h), así como CeraSeal y NeoSEALER Flo ($p < 0.05$; 72 h) (ensayo de contacto directo).

4.- La actividad antibacteriana de los tres cementos biocerámicos objeto de estudio se validó como nula a través de los ensayos de difusión en caldo, sin exhibir diferencia estadísticamente significativa en su actividad ni entre ellos ni en comparación con los controles de caldo BHI y agua estéril ($p > 0.05$ en todos los casos).

5.- Con base en los resultados obtenidos, se confirma la hipótesis alternativa (H1) de este proyecto.

XII. RECOMENDACIONES

- 1.- Determinar la concentración mínima inhibitoria de los cementos biocerámicos estudiados en los ensayos de difusión en caldo.
- 2.- Determinar el mecanismo de actividad de los cementos biocerámicos objeto de estudio (bactericida o bacteriostático).

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Toledo RL, Alfonso Carrazana M, et al. Evolución del tratamiento endodóntico y factores asociados al fracaso de la terapia. *Medicentro Electrónica* [Internet]. 2016 Sep [citado 2023 Mar 14] ; 20 (3): 202-208.
2. Hilú R, Pinal FB. El éxito en endodoncia. *Endodoncia* 2009; 27 (Nº 3):131-138
3. Canalda S. Aguadé E. ENDODONCIA. Técnicas clínicas y bases científicas. 3ra edición. Barcelona, España. 2016.
4. Soares J. Goldberg F. Endodoncia. Técnica y fundamentos. 2da edición. Buenos aires, argentina. Editorial medica panamericana. 2002.
5. LIMPIEZA Y CONFORMACIÓN: Generalidades [Internet].Unam.mx.Disponible en:<https://www.iztacala.unam.mx/rrivas/NOTAS/Notas11Limpieza/genobjetivos.htm>
6. Gómez Montoya, PA. Cementos selladores en endodoncia. *Ustasalud*. 2004; Vol. 3 (Num.2), 100-107.
7. Zambrano de la Peña S, Salcedo-Moncada D, Petkova- Gueorguieva M et al. Biofilm en endodoncia: una revisión. *Odontol. Sanmarquina* 2016; 19(2): 45-49
8. Rodríguez-Niklitschek Cynthia, Oporto V, Gonzalo H. Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por *Enterococcus faecalis* en canales radiculares de dientes desvitalizados: Revisión de la literatura. *Rev. Odont. Mex.* 2015 Sep; 19(3): 181-186.
9. Pardi G, Guilarte C, et al. Detección de *enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta odontol. venez* [Internet]. 2009 Mar [citado 2023 Feb 18]; 47(1): 110-121.
10. Rocas IN, et al. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of endodontics*. VOL. 30, NO. 5, MAY 2004
11. Kayaoglu G ØD. Virulance factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 2004;15(5):308–2
12. Love RM. *Enterococcus faecalis*-a mechanism for its role in endodontic failure. Vol. 34, *International Endodontic Journal*. 2001.

13. Sedgley C *et al.* *Enterococcus faecalis* survival in root canals ex vivo. *International Endodontic Journal*, 38, 735–742, 2005.
14. Stuart, C. H., Schwartz, S. A., Beeson, T. J., & Owatz, C. B. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. In *Journal of Endodontics* (Vol. 32, Issue 2, pp. 93–98). <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.10.049>.
15. Evans, M., Davies, J. K., Sundqvist, G., & Figdor, & D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. In *International Endodontic Journal* (Vol. 35).
16. Zhang, C., Du, J., & Peng, Z. Correlation between *Enterococcus faecalis* and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic Review. In *Journal of Endodontics* (Vol. 41, Issue 8, pp. 1207–1213). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.04.008>.
17. Camacho, E. C., Chino, B. *et al.* Antibacterial effect of endodontic sealers in root canals. *Rev Cubana Estomatol.* 2020;57(3):e2945 <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2945><http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2945>.
18. Hargreaves M. *Vías de la Pulpa*. 11th ed. ELSEVIER; 2016.
19. Fermín B. Dextre OL y Cols. Actividad antimicrobiana y biocompatibilidad de los cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio. Antimicrobial activity and biocompatibility of calcium hydroxide-based endodontic sealers. In *Revista ADM* (Vol. 73, Issue 2). www.medigraphic.com/admwww.medigraphic.org.mx
20. Armenta-Molina, J., Olivares-Acosta, I., & Candolfi-Arballo, O. Inhibición in vitro del crecimiento de *enterococcus faecalis* empleando cementos para endodoncia. *REVMEDUAS*, 12(4), 299–308. <https://doi.org/10.28960/revmeduas.2007-8013.v12.n4.004>
21. Parziale I, Freire Mancebo Y, Díaz-Flores García V. Propiedades físicas de utilidad clínica de los nuevos cementos selladores de endodoncia a base de silicatos. Revisión bibliográfica. *Cient. Dent.* 2021; 18; 4; 255-264

22. Colán-Mora PM y cols. Microfiltración apical in vitro de tres cementos utilizados en la obturación de conductos radiculares. *Rev Estomatol Herediana*. 2008; 18 (1): 9-15.
23. Bautista GT y cols. Estudio comparativo de las características de un sellador de conductos radiculares a base de óxido de zinc y bálsamo del Perú. *Endodoncia actual*. Año 14, num. 02, junio- octubre 2019.
24. Puertas Rodríguez BS. Influencia de los cementos selladores a base de hidróxido de calcio y óxido de zinc y eugenol en la resistencia a la fractura vertical en raíces de premolares inferiores. [tesis de pregrado]. Universidad católica de santa maría. Arequipa 2013.
25. Pulp Canal Sealers™ [Internet]. Kerr Dental. 2016 [citado el 21 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.kerrdental.com/es-es/productos-para-endodoncia/pulp-canal-sealers-obturacion-relleno-endodontico>.
26. Estrada L. Efectividad antibacteriana in vitro de dos cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio agregados con ciprofloxacino y tetraciclina sobre *Enterococcus faecalis*, CUSCO, 2018. *Rev Cien*. 2018, 5(2): 70-75.
27. Rodríguez Gutiérrez G y cols. El hidróxido de calcio: su uso clínico en la endodoncia actual. *Archivo Médico de Camagüey* 2005;9(3) ISSN 1025-0255.
28. Sealapex™ [Internet]. Kerr Dental. 2016 [citado el 21 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.kerrdental.com/es-es/productos-para-endodoncia/sealapex-obturacion-relleno-endodontico>
29. de Bruyne, M. A. A., & de Moor, R. J. G. The use of glass ionomer cements in both conventional and surgical endodontics. In *International Endodontic Journal*. 2004 (Vol. 37, Issue 2, pp. 91–104). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/j.0143-2885.2004.00769>.
30. Kolokuris, I., Beltes, P., Economides, N., & Vlemmas, I. *Experimental Study of the Biocompatibility of a New Glass-Ionomer Root Canal Sealer (Ketac-Endo)*. 1996 (Vol. 22, Issue 8).
31. Dannya Guadalupe Val Calderón. Estudio comparativo de la citocompatibilidad de los cementos selladores biocerámicos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSEALER Flo por ensayos de lixiviados. AH plus root canal sealer [Internet].

32. Maillefer.com. [citado el 21 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://maillefer.com/product/310/>.
33. Espinoza, F., Lizana, A., & Muñoz, P. (2020). ARTÍCULOS CIENTÍFICOS. In *Canal Abierto*.
34. Koch K y cols. (2009). the increase use of bioceramics in endodontics. *Feature Endodontics*, 40–43.
35. Zamparini, F., Prati, C., Taddei, P., Spinelli, A., di Foggia, M., & Gandolfi, M. G. Chemical-Physical Properties and Bioactivity of New Premixed Calcium Silicate-Bioceramic Root Canal Sealers. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022, 23(22). <https://doi.org/10.3390/ijms232213914>
36. Heredia-Veloz D, Abad-Coronel D, Villavicencio-Caparó E. Antibacterial effectiveness of three endodontic sealers against *Enterococcus faecalis*. Vol. 27, Jul-Set. 2017.
37. Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial Activity of Endodontic Sealers by Modified Direct Contact Test Against *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2009 Jul;35(7):1051–5.
38. Abduljabbar S, Abumostafa A. Antimicrobial effect of different calcium silicate – Based bioceramic endodontic sealers against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *Saudi Journal of Oral Sciences*. 2021;8(1):48.
39. Dagna A, Colombo M, Poggio C, Russo G, Pellegrini M, Pietrocola G, et al. In Vitro Antibacterial Activity of Different Bioceramic Root Canal Sealers. *Ceramics*. 2022 Dec 1;5(4):901–7.