

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



**CARGADO DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN EL CEMENTO
ENDODÓNTICO BIOROOT RCS Y SU EFECTO EN LA INHIBICIÓN
DE CRECIMIENTO BACTERIANO**

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

PRESENTA

C.D. AYDEÉ ALEJANDRA ROSIQUE MARTÍNEZ

PRESIDENTE

(DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

SINODAL

(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

SINODAL

(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)

DR. MANUEL ALATORRE MEDA

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA

JUNIO DEL 2018

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **CARGADO DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN EL CEMENTO ENDODÓNTICO BIOROOT RCS Y SU EFECTO EN LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO.**

Propuesto por el **C.D. Aydeé Alejandra Rosique Martínez**, 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

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

PRESIDENTE
(DIRECTORA DEL PROYECTO)

Ccp.- Archivo.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **CARGADO DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN EL CEMENTO ENDODÓNTICO BIOROOT RCS Y SU EFECTO EN LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO.**

Propuesto por el **C.D. Aydeé Alejandra Rosique Martínez**, 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

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

SINODAL
(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

Ccp.- Archivo.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **CARGADO DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN EL CEMENTO ENDODÓNTICO BIOROOT RCS Y SU EFECTO EN LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO.**

Propuesto por el **C.D. Aydeé Alejandra Rosique Martínez**, 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

Dr. Manuel Alatorre Meda

SINODAL
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)

Ccp.- Archivo.

CARGADO DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN EL CEMENTO ENDODÓNTICO BIOROOT RCS Y SU EFECTO EN LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO.

Presenta:

C.D. Aydeé Alejandra Rosique Martínez

Directora:

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

Co-directores:

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez.

Dr. Manuel Alatorre Meda.

Tijuana, Baja California, 29 de mayo del 2018

AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar con todo mi amor este trabajo a mi hija que espero con ansias y que es parte tan importante y de mucha felicidad en este recorrido, mi regalo. Por supuesto también va dedicado a mis padres, que gracias a su amor, apoyo y a la educación que me brindaron me han impulsado y motivado a ser lo que soy, estoy orgullosa de ustedes, mis guías. Por último se lo dedico a mi novio Rafael, por estar para mí siempre, todo lo vivido nos ha unido cada vez más, gracias por luchar y apoyarme incondicionalmente, darme fuerza y ser un pilar tan fuerte en mi vida.

Quiero agradecer a mis hermanos, Alba y César por sus consejos, por ser un soporte vital y por la motivación que me han brindado, esto es por mi familia.

A la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez, Co-directora de esta tesis, por su entrega a la institución, por sus enseñanzas, apoyo y su dedicación al posgrado de Endodoncia, del cual me siento orgullosa de pertenecer, gracias por creer en mí.

Un agradecimiento especial a la Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez, Directora de esta tesis, por ser tan linda, apoyarme, y no sólo a mí, sino a todos mis compañeros, gracias por su tiempo, sus enseñanzas, su disposición y paciencia, mi admiración para usted.

También gracias al Dr. Manuel Alatorre Meda, Co-Director de esta tesis, por estar con nosotras ayudándonos, por brindar sus conocimientos y por formar parte de este logro.

Gracias a todos los docentes que han dado su aportación para superarme académicamente, también a los miembros de la institución que forman el posgrado por su dedicación.

Agradecimientos

Quiero agradecer con mucho cariño a mis compañeros de posgrado, por todo su apoyo y grandes momentos que vivimos, tanto que aprendimos y compartimos, formamos un gran equipo, los mejores deseos y éxito para ustedes.

Agradecimientos institucionales:

A los miembros del Laboratorio de Cultivo Celular y Microscopia Confocal del Instituto Tecnológico de Tijuana, por recibirnos en su Institución y apoyarnos en la realización del proyecto.

A la M.C. Martha Porras y su equipo de trabajo del Laboratorio de Microbiología y Bioquímica del Instituto Tecnológico de Tijuana, por su dedicación, sus aportaciones y enseñanzas, así como compartir sus recursos y su Institución para realizar nuestro trabajo experimental.

A la estudiante de Licenciatura en Nanotecnología Michelle Arizpe Castrejón y a la M. en C. Fernanda Araiza Verduzco del Instituto Tecnológico de Tijuana por la síntesis y donación de las nanopartículas de plata.

A la Dra. Lilia Angélica Hurtado Ayala de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California por la donación de la cepa bacteriana.

A CONACYT por la beca otorgada No. de Becario 606708.

Agradecimientos

Finalmente, se agradece a los siguientes proyectos:

Proyecto de PRODEP: UABC-PTC-689 “Síntesis y caracterización fisicoquímica/biológica de membranas reabsorbibles a partir de polímeros naturales para el tratamiento regenerativo de lesiones periodontales irreversibles”. Responsable: Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez.

Proyecto de CONACyT: INFR-2015-251863 “Fortalecimiento de la infraestructura científica de un laboratorio de cultivo celular para el desarrollo y evaluación biológica de biomateriales poliméricos y nuevas nanoplateformas terapéuticas”. Responsable: Dr. Manuel Alatorre Meda.

Proyecto de CONACyT: PDCPN-2015-89 “Biomateriales producidos a partir de polímeros naturales para tratamiento regenerativo de úlceras del pie diabético”. Responsable: Dr. Manuel Alatorre Meda.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
CONTENIDO.....	iv
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Endodoncia	2
Microbiología endodóntica	3
Mecanismos de patogenicidad microbiana y factores de virulencia	4
Concepto y patogenia del biofilm.....	4
Diversidad de la microbiota endodóntica.....	6
Infección intrarradicular primaria: composición y diversidad microbiana.....	7
Infecciones persistentes o secundarias y fracaso del tratamiento endodóntico	8
Bacterias en el conducto radicular: fase de obturación.....	10
Microbiota del conducto radicular en dientes tratados.....	10
Las bacterias y la importancia de su erradicación en el tratamiento endodóntico.....	12
Estrategias para la erradicación de bacterias en los conductos radiculares....	13
Medicación intraconductos	13
Pasta Tri-antibiótica.....	14
Nanopartículas de plata en endodoncia	15
Obturación endodóntica.....	18

Cementos selladores	20
Cementos Biocerámicos	21
BioRoot RCS	21
Cementos enriquecidos con AgNPs	23
JUSTIFICACIÓN.....	25
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
HIPÓTESIS	27
Hipótesis de trabajo.....	27
Hipótesis nula (H0).....	27
Hipótesis alternativa (H1)	27
OBJETIVOS.....	28
Objetivo general:.....	28
Objetivos particulares:	28
VARIABLES	29
Variable independiente.....	29
Variable dependiente	29
Operación de variables.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS	30
Tipo de estudio.....	30
Universo de estudio.....	30
Metodología.....	30
Materiales	30
Preparación de las muestras	31
Condiciones de cultivo bacteriano.....	33
Caracterización a través de ensayos organolépticos.....	34

Contenido

Caracterización a través de espectroscopia de UV-visible	34
Análisis estadístico.....	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
Evaluación de la supervivencia bacteriana por ensayos organolépticos.....	36
Evaluación de la supervivencia de las bacterias por espectroscopia de UV- visible.....	40
CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES.....	42
Conclusión	42
Recomendaciones	43
REFERENCIAS.	44

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Biopelícula bacteriana mixta.....	5
Figura 2. Proceso de formación de periodontitis apical.....	7
Figura 3. Imagen radiográfica de un incisivo central inferior con lesión (A) ósea por periodontitis apical.	8
Figura 4. Lesiones por periodontitis apical secundaria (A) después del tratamiento de conductos.	9
Figura 5. Túbulos dentinarios con <i>E. faecalis</i>	11
Figura 6. Hidróxido de Calcio para medicación intraconducto.....	14
Figura 7. AgNPs actuando en capa de PGNs generando perforaciones de membrana bacteriana.....	17
Figura 8. Obturación endodóntica definitiva mediante técnica de condensación lateral.	19
Figura 9. Elaboración de las pastillas del cemento en moldes de plástico.	32
Figura 10. Pastillas de cemento BioRoot RCS.	32
Figura 11. Área estéril, cabina de flujo laminar.	32
Figura 12. Crecimiento de <i>E. faecalis</i> en TSA.....	33
Figura 13. Preparación de la suspensión bacterias en caldo BHI.	34
Figura 14. Espectrofotómetro Genesys 10 uv.	35
Figura 15. Imágenes comparativas de muestras de caldo de cultivo estéril (A), de los Grupos 1-3 (B-D) y del Control 1(E), con respecto a caldo de cultivo del Control 2.	38
Figura 16. Imágenes comparativas de muestras de caldo de cultivo del Control 2 (A), Grupos 1-3 (B-D) y Control 1 (E), con respecto a una muestra de caldo de cultivo estéril.....	39
Figura 17. Porcentaje de bacterias <i>E. faecalis</i> encontradas en el caldo de cultivo tras su incubación en presencia de BioRoot RCS, Tetraciclina y BioRoot RCS cargado con AgNPs y Tetraciclina por 24 h.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados
µg	Microgramo
µl	Microlitro
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADT	Prueba de difusión en agar
Ag⁺	Iones plata
AgNPs	Nanopartículas de plata
ANOVA	Análisis de varianza
BHI	Infusión Corazón Cerebro
<i>C. albicans</i>	Candida albicans
CaOH₂	Hidróxido de Calcio
CFU/ml	Unidad formadora de colonias/mililitro
DCT	Prueba de contacto directo
<i>E. faecalis</i>	Enterococcus faecalis
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
h	Horas
H0	Hipótesis nula
H1	Hipótesis alternativa

Lista de abreviaturas

HCSC	Cemento Biocerámico de Silicato de Calcio Hidráulico
MA	Ácido murámico
mg	Miligramos
ml	Mililitro
mm	Milímetros
MTA	Agregado de trióxido mineral
NaCl	Cloruro de sodio
NaClO	Hipoclorito de sodio
nm	Nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
<i>P. aeruginosa</i>	Pseudomona aeruginosa
PGNs	Peptidoglucanos
s	Segundos
<i>S. aureus</i>	Streptococcus aureus
TSA	Agar soya tripticaseína
UV-visible	Radiación ultravioleta visible
ZOE	Óxido de zinc y eugenol

RESUMEN

La Endodoncia es la especialidad odontoestomatológica que se encarga del estudio de la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares, así como del diagnóstico y tratamiento de las enfermedades pulpares y perirradiculares (1). Debido a su desarrollo científico y tecnológico, la Endodoncia es considerada en la actualidad como una de las ramas más importantes de la Odontología. La Endodoncia engloba tratamientos tanto restauradores como protésicos, así como un conjunto de conceptos integrales que tienen como objetivo general el restituir las funciones normales de estructuras bucodentales dañadas.

En la Endodoncia convergen conocimientos de ciencias básicas y clínicas que incluyen la histología, histopatología, microbiología, inmunología, bioquímica, cirugía, medicina bucal, periodoncia, ciencia y tecnología de materiales, metalurgia, física, química, estadística y nanotecnología, solo por citar algunas (2). El análisis conjunto de todos estos conocimientos es primordial si se pretende la implementación de protocolos multifuncionales que aseguren el éxito del tratamiento endodóntico a largo plazo (3). Una clase importante de estos tratamientos denominados “multifuncionales” es la obturación del conducto radicular con materiales que al mismo tiempo de asegurar un sellado hermético tridimensional sean capaces de desplegar actividad antibacteriana.

Teniendo en mente lo anterior, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo cargar nanopartículas de plata en el cemento endodóntico BioRoot RCS para evaluar su efecto en la inhibición del crecimiento bacteriano. La investigación presentada se llevó a cabo mediante ensayos *in-vitro* de crecimiento de bacterias inoculadas en caldo de cultivo en presencia del cemento cargado con nanopartículas, empleando como blancos de comparación cemento cargado con el antibiótico tetraciclina y cemento sin cargar (sin nanopartículas y sin antibiótico). La inhibición del crecimiento de las bacterias fue evaluada de manera cualitativa y cuantitativa a través de ensayos organolépticos (cambio en la turbidez del caldo de cultivo) y espectroscopia de UV-visible (cambios en la absorbancia del caldo de cultivo), respectivamente.

INTRODUCCIÓN

Endodoncia

La Endodoncia, como conjunto de conocimientos metódicamente formado y ordenado, constituye una ciencia integrada en el conjunto de las ciencias de la salud. Es el campo de la odontología que estudia la morfología de la cavidad pulpar, la fisiología y la patología de la pulpa dental, así como la prevención y el tratamiento de las alteraciones pulpares y de sus repercusiones sobre los tejidos perirradiculares (1,2). Así pues, incluye el diagnóstico diferencial y el tratamiento del dolor bucofacial de origen pulpar y periapical; los tratamientos para mantener la vitalidad de la pulpa; los tratamientos de conductos radiculares cuando existe necrosis pulpar con o sin complicación periapical; tratamientos quirúrgicos para eliminar tejidos periapicales inflamatorios, así como resección apical; tratamiento de dientes traumatizados; retratamiento de dientes con fracaso endodóntico y restauración coronal mediante postes y muñones (1).

Para cumplir con su cometido, la Endodoncia hace uso de procedimientos terapéuticos que pueden ser clasificados de manera general en dos grupos: (i) Tratamientos conservadores y (ii) Tratamientos radicales. Dentro de los tratamientos conservadores se encuentran la protección pulpar indirecta y directa, el curetaje pulpar y la pulpotomía y tienen como finalidad el conservar la pulpa dental, o parte de ella, viva y en condiciones de ejercer sus funciones. En lo que respecta a los tratamientos radicales tales como la pulpectomía y el tratamiento de dientes con pulpa mortificada, también conocidos como tratamiento de conductos, estos tratamientos buscan conservar los dientes cuya pulpa se encuentra con daño irreversible o ha perdido la capacidad de mantenerse con vitalidad (4). El éxito del tratamiento de conductos, además de la tríada de desbridamiento, desinfección exhaustiva y obturación, se basa en principios más profundos, que incluyen el diagnóstico y la planificación del tratamiento, el conocimiento de la anatomía y morfología dental y la restauración coronal (3).

Siendo la obturación una de las partes importantes en el tratamiento de conductos, el presente estudio se enfoca en el uso de un cemento endodóntico que permita el sellado de los conductos radiculares y que tenga actividad antimicrobiana. Con el objetivo de contextualizar este trabajo de investigación, en las sub-secciones siguientes de esta introducción se abordarán distintos conceptos, tanto biológicos como técnicos, relacionados con las características y aplicación de cementos selladores.

Microbiología endodóntica

La microbiología es la ciencia que se encarga del estudio de los microorganismos, comprende desde las bacterias, hongos, protozoarios, algas (unicelulares o multicelulares) hasta los virus que son microorganismos no celulares con dimensiones entre los 15 y 300 nm) (2).

En lo que respecta a la infección pulpar y la formación de lesiones perirradiculares, el principal agente etiológico son las bacterias (5). El cuadro clínico y la gravedad de la infección estarán relacionados con la interacción entre la microbiota presente en los conductos radiculares y la cámara pulpar tras la infección bacteriana y la respuesta defensiva del huésped (6).

Aunque se ha detectado la presencia de hongos, arqueas e incluso virus en las infecciones endodónticas, las bacterias siguen siendo considerados los principales microorganismos implicados en la patogenia de la periodontitis apical. En las fases avanzadas del proceso infeccioso endodóntico se pueden observar las colonias bacterianas organizadas a modo de biopelículas adheridas a las paredes del conducto (3), esto aunado a la resistencia que presentan las bacterias, puede disminuir la tasa de éxito del tratamiento del sistema de conductos. Lo anterior refleja la necesidad de mejorar tanto las técnicas de manejo endodóntico como las propiedades de los materiales de uso endodóntico.

Mecanismos de patogenicidad microbiana y factores de virulencia

La capacidad de un microorganismo de causar enfermedad se denomina *patogenicidad*. La *virulencia* indica el grado de patogenicidad de un microorganismo y los *factores de virulencia* son los productos microbianos, los componentes estructurales o las estrategias que contribuyen a la patogenicidad. Los factores de virulencia de las bacterias consisten en los componentes estructurales celulares y los productos liberados. Los métodos utilizados por las bacterias que contribuyen a la patogenicidad son la capacidad de formar agregados y crear biopelículas, lo que les confiere protección frente a las defensas del huésped y a los agentes antimicrobianos. Algunos microorganismos causan sistemáticamente la enfermedad en el huésped y se denominan *patógenos primarios*. Otros, causan la enfermedad sólo cuando las defensas están deterioradas y se denominan *patógenos oportunistas*. Las bacterias que componen la microbiota normal están presentes como comensales inocuos y viven en equilibrio con su huésped (3).

Concepto y patogenia del biofilm

El biofilm o biopelícula se puede definir como una estructura asociativa de una o varias estirpes bacterianas, embebidas en una matriz extracelular de polisacáridos autoproducida y que se encuentra adherida a una superficie o sustrato. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el biofilm se puede definir también como un ecosistema bacteriano proliferante y enzimáticamente activo. Los biofilms se unen a superficies inertes, tanto biológicas como sintéticas. Dentro de las biológicas optan preferentemente por tejidos necróticos (7).

Desde el punto de vista clínico, es relevante el conocimiento de lo que conforma el biofilm o también denominado biopelícula en la rama de la endodoncia, ya que el aumento de la resistencia de la biopelícula a los antimicrobianos es motivo de una preocupación particular, ya que las bacterias organizadas en las biopelículas son más resistentes a los antibióticos que las mismas células organizadas en estado flotante. La

concentración de antibióticos necesaria para eliminar las bacterias de la biopelícula es entre cien y mil veces mayor que la necesaria para eliminar las mismas especies en estado flotante (3). Existen mecanismos posibles implicados en la resistencia de la biopelícula a los antimicrobianos. El agente puede absorber e inhibir las bacterias en la superficie de la biopelícula, sin afectar relativamente a las células situadas en las zonas más profundas de la biopelícula. La matriz de las biopelículas también pueden inactivar a los antimicrobianos; estos son puntos muy importantes de conocer para considerar en la desinfección de los conductos radiculares cuando se realiza un tratamiento endodóntico (3). En la **Figura 1** se puede observar donde se encuentra la letra (A) una biopelícula mixta adherida en la superficie de un diente que se representa con la letra (B), mediante tinción de Brown y Brenn a x1000.

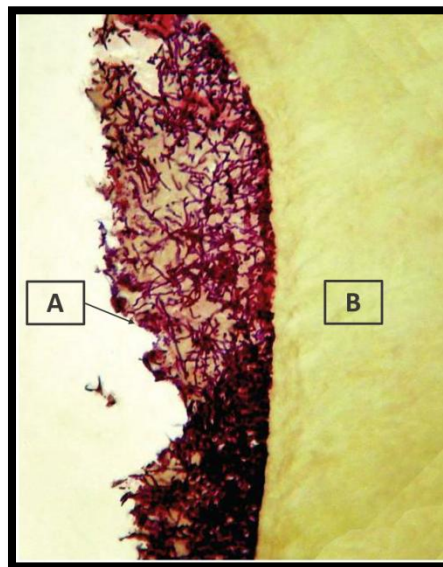


Figura 1. Biopelícula bacteriana mixta

Biopelícula bacteriana mixta (A), adherida a la superficie de un diente (B) (tinción de Brown y Brenn x1.000).

Diversidad de la microbiota endodóntica

La *diversidad* se refiere al número de especies presentes (riqueza) y a su abundancia relativa (uniformidad) en un determinado ecosistema (3). La cavidad oral alberga una de las más altas acumulaciones de microorganismos del cuerpo. Aunque podemos encontrar virus, arqueas, hongos y protozoos como componentes habituales de la microbiota oral, son las bacterias las más predominantes en la cavidad bucal, donde se calcula que existen unos 10,000 millones de células bacterianas y los métodos de estudios sin cultivo (microscopios y biología molecular) demuestran que más del 50-60% de la microbiota bucal aún no ha sido cultivada e identificada. En la cavidad bucal se han encontrado más de 700 taxones bacterianos que, según estudios filogenéticos, pertenecen a 13 filos distintos, y las bacterias endodónticas se engloban en 9 de los 13 filos. *Firmicutes*, *Spirochaetes*, *Synergistes*, TM7, Sulphur River 1 (SR1), *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Deicococcus* y *Acidobacteria* (8).

La *periodontitis apical* es, esencialmente, una enfermedad inflamatoria de etiología microbiana que se debe principalmente a una infección del sistema de conductos radiculares. Aunque hay algunos factores químicos y físicos que pueden causar la inflamación perirradicular, los datos científicos demuestran que la infección endodóntica es esencial para la progresión y la perpetuación de las diferentes formas de periodontitis apical. La infección endodóntica se desarrolla en los conductos radiculares en ausencia de las defensas del huésped, como consecuencia de la necrosis de la pulpa (como una secuela de la caries, un traumatismo, una afección periodontal o procedimientos quirúrgicos iatrógenos) o por la eliminación de la pulpa por tratamiento. Las bacterias que colonizan el sistema del conducto radicular entran en contacto con los tejidos perirradiculares a través de los forámenes apicales o laterales o de las perforaciones de la raíz. Después, se produce el encuentro entre las bacterias y las defensas del huésped y comienzan las reacciones inflamatorias en los tejidos perirradiculares, que dan paso al desarrollo de la periodontitis apical. En la **Figura 2** se ilustra el proceso de formación de una periodontitis apical (3).

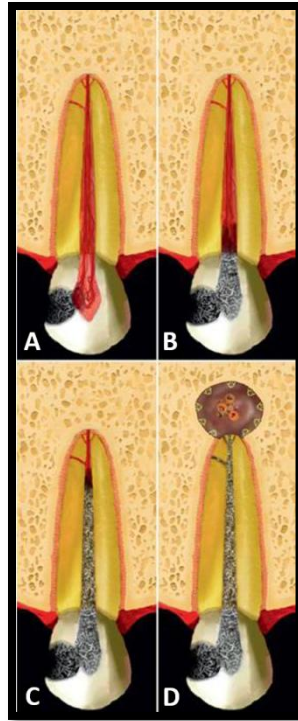


Figura 2. Proceso de formación de periodontitis apical.

En la ilustración se muestra el proceso de infección de la pulpa a partir de la exposición a la caries (A), seguido de un proceso inflamatorio (B y C) que da como resultado una periodontitis apical (D) (3).

Infección intrarradicular primaria: composición y diversidad microbiana

La *infección intrarradicular primaria* es la infección del tejido necrótico de la pulpa. Un estudio clásico de Kakehashi *et al.* 1965, demostró la relación estrecha entre microorganismos y enfermedad endodóntica. Después de la exposición de la pulpa dental a la cavidad oral, se desarrollaron lesiones pulpares y periapicales en ratas comunes, pero esto no sucedió en las ratas libres de gérmenes (gnotobióticas) que no desarrollaron lesiones. Los microorganismos participantes pueden haber estado implicados en las primeras fases de invasión de la pulpa que culminó en la inflamación y posterior necrosis, o bien pueden haber sido los últimos en llegar, y se han aprovechado de las condiciones ambientales que reinan en el conducto radicular

después de la necrosis de la pulpa (3). Se ha demostrado que el número de taxones por conducto está claramente relacionado con el tamaño de la lesión: las lesiones pequeñas (<5 mm) albergan en torno a 12 taxones, las lesiones entre 5-10 mm incluían 16 taxones y las lesiones mayores de 10 mm, 20 especies. Las infecciones primarias, incluidos los casos abscesificados, pertenecen a diversos géneros de bacterias Gram (-) (*Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veillonella*) y Gram (+) (*Parvimonas*, *Filifactor*, *Pseudoramibacter*, *Olsenella*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* y *Eubacterium*) (9). En la **Figura 3**, se puede observar una radiografía periapical de un incisivo central inferior con lesión por periodontitis apical debido a una infección intrarradicular primaria.

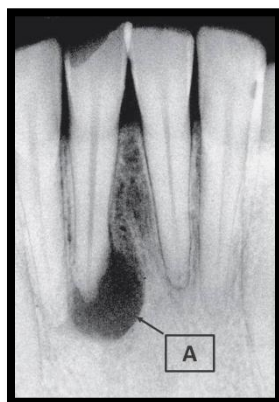


Figura 3. Imagen radiográfica de un incisivo central inferior con lesión (A) ósea por periodontitis apical.

Infecciones persistentes o secundarias y fracaso del tratamiento endodóntico

Las *infecciones intrarradiculares persistentes* se deben a microorganismos que han resistido a los procedimientos antimicrobianos dentro del conducto y que han sobrevivido en el conducto tratado. Los microorganismos implicados son los restos de una infección primaria o secundaria, en este último caso debida a microorganismos que

en algún momento entraron en el sistema del conducto radicular como consecuencia de una intervención profesional. El momento podría ser durante el tratamiento, entre las citas o incluso después de llenar el conducto radicular. En cualquier caso, si los microorganismos que penetran intentan adaptarse al nuevo entorno, sobrevivir y proliferar, se establecerá una infección secundaria. Las especies involucradas pueden ser microorganismos orales o no orales (3).

Las infecciones intrarradiculares persistentes o secundarias son las principales causas de fracaso del tratamiento endodóntico. Se ha demostrado que hay un aumento de riesgo de evolución adversa del tratamiento cuando hay bacterias en el conducto en el momento de la obturación, y que la mayoría de los dientes tratados cuyo conducto radicular muestra indicios de lesiones persistentes de periodontitis apical alberga una infección intrarradicular (8). En la **Figura 4** se puede observar una radiografía periapical de las piezas 21 y 22 con tratamiento endodóntico previo y postes, donde se observa la presencia de lesiones por periodontitis apical secundaria.

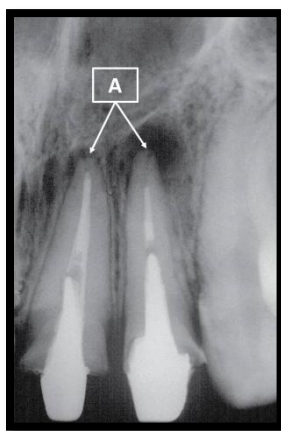


Figura 4. Lesiones por periodontitis apical secundaria (A) después del tratamiento de conductos.

Bacterias en el conducto radicular: fase de obturación

El tratamiento antimicrobiano puede ser insuficiente para eliminar por completo las bacterias de los conductos radiculares ya que estas pueden ser resistentes o inaccesibles a los procedimientos terapéuticos. No se han identificado especies aisladas importantes que persistan después de los procedimientos. Por lo general las bacterias Gram (-), miembros habituales de las infecciones primarias, se han eliminado, a excepción de algunos bacilos anaerobios como *Fusobacterium nucleatum*, algunas *Prevotellas* y *Campylobacter rectus* (8). Se ha visto que las bacterias Gram (+) son las más frecuentes en infecciones persistentes, los cuales a menudo son *Streptococcus*, *Parvimonas micra*, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Lactobacilos*, *Enterococcus Faecalis* (*E.faecalis*) y *Olsenella uli*. Esto apoya a la teoría de que las bacterias Gram (+) pueden ser más resistentes al tratamiento antimicrobiano, teniendo la capacidad de adaptarse a las condiciones ambientales más adversas en los conductos radiculares instrumentados y medicados (3). El 40% de los taxones que se encuentran en las muestras obtenidas después del tratamiento son bacterias que no se han cultivado hasta la fecha, lo que indicaría que, además de las otras razones, obtener cultivo negativo después de los procedimientos terapéuticos no implica necesariamente esterilidad (10). Dado que las bacterias a pesar de los procedimientos convencionales de desinfección pueden ser resistentes, incluso después de la obturación endodóntica, es de gran importancia dar énfasis en la desinfección e implementar técnicas para potenciar la efectividad de la misma, para lograr elevar las tasas de éxito de los tratamientos endodónticos.

Microbiota del conducto radicular en dientes tratados

Los conductos aparentemente bien tratados albergan entre una y cinco especies bacterianas pero cuando el tratamiento es inadecuado puede ascender hasta 10 o 30 especies bacterianas en los conductos radiculares, una cifra muy similar a la encontrada en los conductos no tratados. *E. faecalis* es la especie más frecuente en el conducto radicular y los dientes tratados con prevalencias que ascienden hasta el 90%

de los casos (3). El conducto radicular y los dientes tratados tienen nueve veces más probabilidades de contener *E. faecalis* que los casos de infecciones primarias, lo que indica que esta especie se podría inhibir por otros miembros de un consorcio bacteriano mixto que habitualmente está presente en las infecciones primarias y cuya supervivencia no sería impedida por las condiciones ambientales adversas de los conductos radiculares obturados. *E. faecalis*, podría ser resistente al tratamiento y provocaría una infección secundaria que después se torna persistente (8).

La capacidad de *E. faecalis* de penetrar en los túbulos de dentina, a veces hasta zonas muy profundas, le permitiría escapar a la acción bioquimiomecánica, además su capacidad de formar biopelículas en los conductos radiculares puede ser un factor importante para su resistencia y persistencia. Por otra parte, es resistente también al hidróxido de calcio. Esta capacidad de resistencia a los valores altos de pH parece estar relacionada con una bomba de protones funcionando que dirige a estos hacia la célula para acidificar su citoplasma (11). En la **Figura 5**, se puede observar una imagen de los túbulos dentinarios de un diente de perro infectados por *E. faecalis* después de una infección experimental, observados mediante tinción de Brown y Brenn a x1000.

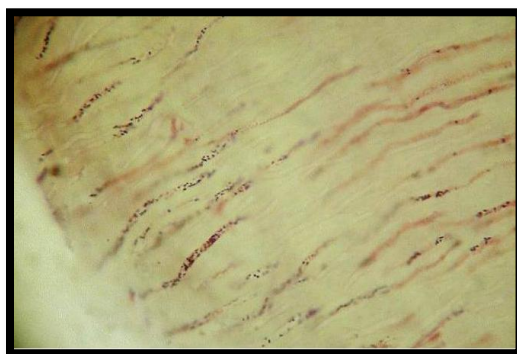


Figura 5. Túbulos dentinarios con *E. faecalis*.

Infección del túbulo de dentina por *E. faecalis* en dientes de perro después de la infección experimental (tinción de Brown y Brenn x1000).

A diferencia de la mayoría de los posibles patógenos endodónticos que se encuentran a menudo en infecciones primarias, *E. faecalis* puede colonizar los conductos radiculares en las infecciones simples y esta independencia relativa que le permite vivir sin tener que obtener los nutrientes de otras bacterias puede ser sumamente importante para que se pueda establecer en los conductos radiculares tratados. Se ha demostrado por otra parte, que esta bacteria tiene la capacidad de sobrevivir en entornos con escasez de nutrientes y después vuelve a proliferar cuando se restablece la fuente de nutriente (12).

Las bacterias y la importancia de su erradicación en el tratamiento endodóntico

El tratamiento de conductos pretende prevenir y/o curar la patología periapical. La causa más frecuente de esta patología son los microorganismos. Cuando ya se ha instaurado una necrosis del tejido pulpar, dicho tratamiento pretende eliminar, o al menos, reducir el número de microorganismos presentes en el sistema de conductos mediante la preparación biomecánica y posteriormente evitar su reinfección mediante la obturación de dicho sistema (13).

Diversos estudios han demostrado que las bacterias son el principal agente etiológico de infección pulpar y formación de lesiones perirradiculares (5). Además, se ha demostrado que la presencia de bacterias residuales en el conducto de la raíz está conectada con tasas significativamente más altas de fracaso del tratamiento (14). En general, la microbiota de los conductos radiculares es polimicrobial aunque predominan las bacterias Gram negativas anaerobias (15). El conocimiento de la diversidad de bacterias y el efecto negativo que estas causan en los tejidos dentales y perirradiculares da pie a la búsqueda de estrategias que ayuden a disminuir considerablemente la cantidad de bacterias presentes en los conductos radiculares para poder proporcionar las condiciones ideales que devuelvan la salud a dichos tejidos. Así pues, la eliminación de microorganismos de los conductos radiculares es clave para el éxito del tratamiento endodóntico.

Estrategias para la erradicación de bacterias en los conductos radiculares

Para lograr una mejor desinfección de los conductos radiculares es indispensable utilizar técnicas que potencien el efecto de los antimicrobianos y desinfectantes empleados en el tratamiento endodóntico. Además, es recomendable el uso de coadyuvantes para la desinfección intrarradicular como lo son la medicación intraconducto, el manejo de antibióticos y, más recientemente, el uso de nanopartículas de plata.

Medicación intraconductos

La medicación intraconducto se caracteriza por la colocación de un fármaco en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento endodóntico. Los objetivos de la medicación, así como las sustancias y las técnicas utilizadas difieren entre sí en función de la situación clínica del diente en tratamiento. En los casos de pulpa necrótica, el contenido microbiano y tóxico de la cavidad pulpar determina la opción por sustancias antisépticas como auxiliares en la desinfección de los conductos radiculares (4). El apósito intraconducto se consideró como un paso fundamental del tratamiento endodóntico durante muchos años. En la actualidad, el efecto real del apósito intraconducto en los dientes con periodontitis apical es controversial. La preparación químico-mecánica de los conductos radiculares se ha considerado el procedimiento clínico responsable principalmente del control microbiano debido al saneamiento intraconducto, incluido el vaciamiento, la ampliación y el riego del conducto (16).

Entre los apósitos intraconducto comúnmente utilizados, se ha demostrado que la pasta de hidróxido de calcio es biocompatible y efectiva en los dientes con periodontitis apical (17). Esto se comprueba con otro de estudio del Dr. Vera y cols., donde realizan tratamientos de endodoncia en dientes con periodontitis apical en 1 versus 2 citas; en

los dientes de 2 citas se medicó intraconducto con CaOH_2 , se obtuvo como resultado que los dientes medicados tuvieron menor cantidad de bacterias, inclusive piezas dentales libres de bacterias (18). En la **Figura 6** se muestra una presentación comercial de Hidróxido de calcio puro, que puede ser mezclado con el vehículo de elección.



Figura 6. Hidróxido de Calcio para medicación intraconducto.

Las sustancias más utilizadas como medicación intraconducto son el *Hidróxido de calcio*, mezclado con diversos vehículos como: clorhexidina, suero fisiológico, solución salina, hipoclorito de sodio, anestesia, propilenglicol, polietilenglicol, glicerina, agua destilada, entre otros. También se han utilizado anteriormente una asociación de corticoide más antibiótico, así como también el paramonoclorofenol alcanforado y el tricresol, que ya actualmente no se utilizan (4).

En lesiones periapicales de pacientes jóvenes, que no han terminado de desarrollar sus raíces, donde en estos casos la irrigación no puede ser eficiente, se utiliza la pasta *tri-antibiótica* como alternativa de medicación intraconducto para reducir la cantidad de bacterias y realizar tratamientos de regeneración tisular o de apicoformación para permitir el desarrollo completo de las raíces.

Pasta Tri-antibiótica

La pasta tri-antibiótica está indicada en piezas deciduas con necrosis pulpar o en piezas dentarias de jóvenes con ápices abiertos que sean piezas aptas para

tratamientos de revascularización, apicogénesis o apicoformación (19), y es también utilizada como una técnica alternativa a la pulpectomía convencional con Óxido de Zinc y Eugenol (ZOE por sus siglas en inglés). Esta pasta tiene la capacidad de difundirse a través de los conductos radiculares hasta la zona periapical ejerciendo una acción in situ (20). La pasta tri-antibiótica, como su nombre lo indica, es una pasta de aplicación local hecha a partir de la mezcla de tres antibióticos: (i) *Ciprofloxacino*: fluoroquinolona con efecto bactericida, (ii) *Metronidazol*: compuesto de nitroimidazol que exhibe un amplio espectro de actividad contra protozoos y bacterias anaerobias y (iii) *Minociclina*: derivado semi-sintético de tetraciclina con un espectro de actividad similar. La parte líquida de esta pasta está formada por el propilenglicol, que actúa como vehículo eficaz debido a que tiene la capacidad de penetrar rápidamente la dentina y actuar contra la lesión. Esta pasta se utiliza para la desinfección de lesiones pulpares y periapicales ya que actúa contra un gran número de especies bacterianas que son sensibles a la combinación de estos antibióticos (21).

Nanopartículas de plata en endodoncia

En el común de las infecciones endodónticas es imposible eliminar completamente los microorganismos del sistema de conductos. Como consecuencia, se vuelve imprescindible un buen sellado y la medicación intraconducto de agentes con actividad antibacteriana (22).

La plata ha sido utilizada como material bactericida desde hace muchos años (23). Debido a sus funciones biocidas, propiedades anti-inflamatorias y efecto antiviral, se ha considerado seriamente la aplicación de nanopartículas de plata (AgNPs) para controlar la formación de biofilm dentro de la cavidad oral (24).

La acción antimicrobiana, antifúngica y antiviral de la plata o compuestos de plata es proporcional a la cantidad de iones plata (Ag^+) bioactivos liberados y su disponibilidad para interaccionar con las membranas celulares bacterianas o fúngicas (25). Sin embargo, según Chaloupka *et al.*, las AgNPs tienen propiedades antibacterianas

intrínsecas que no dependen de la elución de iones (Ag^+). La plata provoca disrupción de la membrana bacteriana, probablemente debido a la producción de especies reactivas de oxígeno, incluyendo los radicales libres, que podrían subyacer y explicar tanto la actividad antibacteriana de las AgNPs y su potencial de toxicidad para los seres humanos (24). La disrupción de la membrana bacteriana permite a las AgNPs acceder al citoplasma, causando daño posterior al ADN y otros compuestos que contienen fósforo, afectando la cadena respiratoria y causando daño estructural en las bacterias, lo que es denominado como acción oligodinámica (22).

Alternativamente, la literatura indica que existe una fuerte interacción entre AgNPs y peptidoglucanos (PGNs). Las AgNPs interaccionan con las paredes de las células bacterianas ya sea individualmente o mediante la liberación de iones Ag^+ . Debido a su tamaño nanométrico, las AgNPs hacen una conexión con la pared celular y generan perforaciones en su estructura. A partir de entonces, las AgNPs se acumulan y comienzan a conectarse más fuertemente con las capas subyacentes, liberando también iones Ag^+ . Estos fenómenos influyen más fuertemente en la destrucción de bacterias Gram positivas, dado que en comparación con las bacterias Gram negativas, estas tienen una capa más gruesa de PGNs. Estos fenómenos son seguidos por la fragmentación de cadenas de glucanos que liberan pequeñas cantidades de aminoazúcares y ácido murámico (MA), así como la deformación de péptidos, dando lugar a perforaciones más grandes en la pared celular, que resultan en la destrucción de la misma y en el posterior desalojo de los organelos de la célula bacteriana (26). En la **Figura 7** se muestra cómo actúan las AgNPs en la capa de PGNs, generando perforaciones y deformación de la misma.

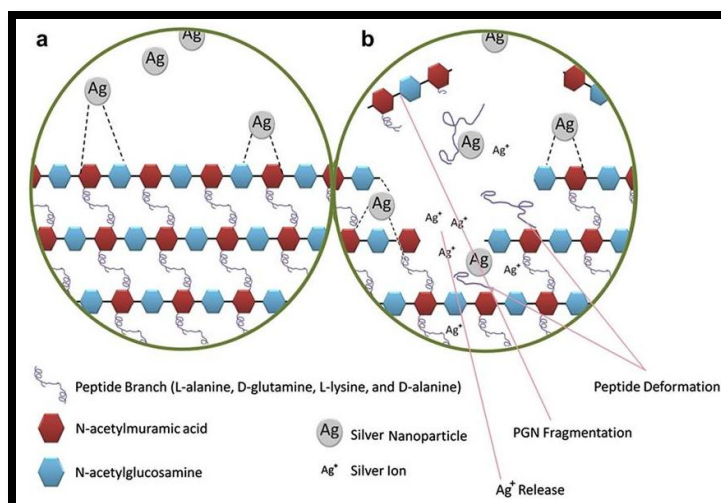


Figura 7. AgNPs actuando en capa de PGNs generando perforaciones de membrana bacteriana.

Los hexágonos azules y rojos representan las cadenas de glucanos unidos mediante puentes peptídicos, estas cadenas forman la capa de PGNs como se observa en la imagen (a); nótese en la imagen (b) como las esferas de color gris (AgNPs) liberan iones Ag⁺ que interaccionan con la capa de PGNs deformándola y generando perforaciones.

Dado que en la rama de endodoncia es también de vital importancia la irrigación y desinfección de los conductos radiculares, Lotfi *et al.*, realizaron un estudio comparando el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio (NaClO) y de una solución de AgNPs contra *E. faecalis*, que es una bacteria a menudo aislada de los casos de tratamiento endodóntico fallido. Los autores observaron que no hubo diferencia significativa en el efecto antibacteriano entre soluciones 5.25% de NaOCl y 0.005% de AgNPs; lo que sugiere que la solución de AgNPs en una concentración notablemente menor, posee el mismo efecto bactericida que el NaOCl al 5.25%. Por lo tanto, las AgNPs podrían ser utilizadas como un nuevo irrigante intraconducto, ya que el NaOCl puede ser muy irritante y tóxico para los tejidos perirradiculares (27). En otro estudio de Yoshida *et al.*, se mostró que un compuesto de resina constituida con materiales que contienen plata tuvo un efecto inhibitor a largo plazo contra *Streptococcus mutans*. Los autores también demostraron que la incorporación de zeolita de plata en materiales de relleno de endodoncia potenció su efecto bactericida contra algunos

microorganismos (22). En otro estudio, de Bonatto *et al.*, tuvieron como objetivo sintetizar, caracterizar y evaluar las propiedades antimicrobianas de las AgNPs para su uso en el desarrollo de una fórmula intraconducto de la raíz. Los autores mezclaron las AgNPs con hidroxietilcelulosa, carbómero y polietilenglicol. Las AgNPs mostraron actividad antimicrobiana con los tres vehículos. Su incorporación produjo formulaciones estables en todos los casos, aunque la hidroxietilcelulosa cargada con AgNPs fue la formulación que presentó mejores propiedades físicas (28). En otra investigación, González Luna *et al.*, determinaron el efecto bactericida de AgNPs como agente de irrigación final en endodoncia. Este estudio incluyó 120 órganos dentales extraídos inoculados con *E. faecalis*, organizados en 4 grupos: (A) 30 dientes irrigados con una dispersión de AgNPs (537 µg/ml); (B) 30 dientes irrigados con una solución de hipoclorito de sodio (2.25%); (C) 30 dientes irrigados con una dispersión de AgNPs (537 µg/ml) + EDTA (17%); y (D) 30 dientes con solución salina. Los resultados mostraron que las AgNPs (10 nm de diámetro) y el hipoclorito de sodio al 2.25% fueron efectivos para eliminar *E. faecalis*, sin diferencia significativa entre ellos (29).

Obturación endodóntica

La obturación endodóntica consiste en el llenado de la porción conformada del conducto con biomateriales inertes y/o antisépticos que promuevan un sellado hermético tridimensional y estimulen el proceso de reparación o no interfieran con éste (3). Tiene como objetivo ocupar el espacio donde antes se encontraba la pulpa y evitar de esta forma la diseminación de las bacterias y sus elementos a través del conducto radicular al área periapical (30), evitar la supervivencia de los microorganismos y el estancamiento de líquidos, entre otros. Por ello resulta de vital importancia que el llenado de los conductos sea provisto con una obturación fuerte y duradera que asegure el éxito del tratamiento de conductos (30).

Dentro de los materiales que se emplean después de la conformación y desinfección de los conductos radiculares, el principal material núcleo que se utiliza en la actualidad

es la *gutapercha* en sus diversas presentaciones, en conjunción con los cementos selladores como coadyuvantes importantes en el proceso de obturación. El uso de un cemento sellador es esencial en todas las técnicas de obturación para lograr un sellado hermético (3). Por consecuencia cualquier bacteria que no sea removida por completo durante los procesos de limpieza y configuración debe sellarse (“sepultarse”) y hacerla inocua por privación de nutrientes. Un material de obturación del conducto radicular debe, por lo tanto, evitar la infección/reinfección de los conductos radiculares tratados. Junto con un nivel aceptable de biocompatibilidad (material inerte) esto proveerá la base para promover la curación de los tejidos periodontales y mantener saludables las condiciones periapicales. Además de lo anterior, procedimientos recientes han explorado la posibilidad de emplear cementos con actividad regenerativa, en especial después de un tratamiento agresivo o después de una patosis apical (30). En la **Figura 8** se muestra una imagen del proceso de obturación definitiva mediante la técnica de condensación lateral.

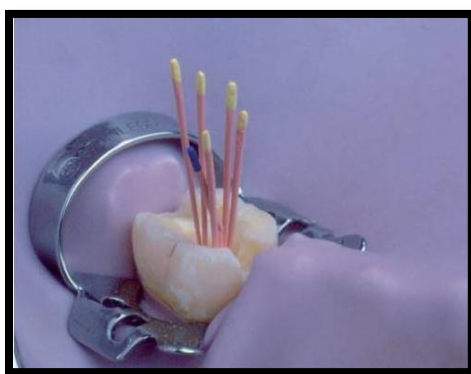


Figura 8. Obturación endodóntica definitiva mediante técnica de condensación lateral.

La Guía clínica de Endodoncia dice que los cementos selladores del conducto radicular se usan en conjunción con un material de obturación biocompatible, semisólido o sólido, para conseguir un sellado adecuado del sistema de conductos radiculares (31).

Cementos selladores

Los cementos selladores del conducto radicular son necesarios para sellar el espacio entre la pared dentinaria y el material obturador. Estos de igual manera llenan los huecos, las irregularidades del conducto radicular, los conductos laterales, accesorios y los espacios que quedan entre las puntas de gutapercha usadas en la compactación lateral, además actúan como lubricantes durante el proceso de obturación (3).

La composición de los cementos selladores comúnmente utilizados en endodoncia se basan en Óxido de Zinc y Eugenol, Hidróxido de Calcio, Agregado de Trióxido Mineral (MTA, por sus siglas en inglés), Ionómero de Vidrio o polímeros, tales como Resinas Epoxi, Polidimetilsiloxano, Metacrilatos, y por último los más novedosos, los cementos Biocerámicos (32).

En la literatura se describen las propiedades del cemento sellador ideal. Entre otras, se pueden resaltar las siguientes (3):

- Debe ser pegajoso durante la mezcla para proporcionar buena adherencia con la pared del conducto una vez fraguado.
- Debe proporcionar un sellado hermético.
- Debe ser radioopaco para poder ser observado radiográficamente.
- Debe ser un polvo muy fino para poder ser mezclado fácilmente con el líquido.
- No debe contraerse al fraguar.
- No debe teñir la estructura dental.
- Debe ser bacteriostático o por lo menos no favorecer la proliferación bacteriana.
- Debe fraguarse lentamente.
- Debe ser insoluble en los fluidos tisulares.
- Debe ser tolerado por los tejidos y no producir irritación del tejido perirradicular.
- Debe ser soluble en un solvente biocompatible por si se precisa su remoción del conducto radicular.

Cementos Biocerámicos

Los materiales biocerámicos se describen como "productos o componentes cerámicos empleados en aplicaciones médicas y dentales que tienen propiedades osteoinductivas" (33).

El primer Cemento Biocerámico de Silicato de Calcio Hidráulico (HCSC) patentado para aplicaciones de endodoncia fue el Agregado de Trióxido Mineral (MTA, Dentsply Tulsa Dental Specialties, Johnson City, TN, EE. UU.), que es esencialmente un derivado de cemento Portland. Este material ha atraído una atención considerable debido a su excelente capacidad de sellado, biocompatibilidad, capacidad regenerativa y propiedad antibacteriana. Los HCSC se han usado ampliamente como materiales de reparación endodónticos y sustitutos de dentina. Existen numerosas publicaciones donde se reporta que estos cementos producen una capa superficial rica en apatita después de que entran en contacto con fluidos corporales simulados (33). Actualmente las terapias de endodoncia se han beneficiado enormemente de los cementos endodónticos de silicato tricálcico, comúnmente conocidos como cementos basados en MTA (agregado de trióxido mineral). Estos materiales son hidrofílicos, requieren agua para establecerse y tienen buena biocompatibilidad y capacidad de formación de apatita (34). Más adelante se describirá el cemento de interés para este proyecto, específicamente del cemento sellador biocerámico *BioRoot RCS*.

BioRoot RCS

Se ha desarrollado un nuevo sellador de conductos radiculares a base de silicato de calcio, BioRoot RCS (Septodont), específicamente para el llenado del conducto radicular. Según el fabricante, este material se presenta en forma de polvo y líquido. El polvo está compuesto de silicato de tricalcio, óxido de zirconio (opacificador) y excipientes. La solución acuosa está hecha de cloruro de calcio y excipientes. Aunque estas modificaciones tienen como objetivo mejorar las propiedades de manejo y evitar la decoloración de los dientes, pueden influir en el potencial de regeneración de los

tejidos circundantes (35). Este cemento se ha comercializado desde febrero de 2015 y recomendado para la técnica de obturación de cono único o mediante técnica de condensación lateral en frío. El polvo además de contener silicato de tricalcio y óxido de zirconio, tiene *povidona*; el líquido aparte de tener solución acuosa de cloruro de calcio antes mencionada, contiene *polycarboxilato* (34). Se ha informado que BioRoot RCS induce in vitro a la producción de factores de crecimiento angiogénicos y osteogénicos por las células del ligamento periodontal humano (35). Otra propiedad evaluada y de gran importancia es la actividad antimicrobiana, en el estudio de Camilleri *et al.*, se comprobó que el cemento BioRoot RCS tiene actividad antimicrobiana (36). Además, tiene una citotoxicidad menor que otros selladores de conductos radiculares convencionales, como en el estudio de Dimitrova *et al.*, se evaluaron las propiedades de biocompatibilidad y osteoinducción del cemento BioRoot RCS comparado con Pulp Canal Sealer (Kerr) utilizando la línea A4 de células madre derivadas de pulpa de ratón, que tienen un potencial osteo / odontogénico in vitro y contribuyen a la reparación ósea eficaz in vivo; se obtuvo como resultado que BioRoot RCS puede inducir la deposición de tejido duro (37). Otro factor que beneficia los tratamientos de endodoncia es la alcalinidad del medio, ya que un ambiente alcalino promueve la actividad antibacteriana afectando el metabolismo de las bacterias; en el estudio de Siboni *et al.*, se demostró que BioRoot RCS elevó el pH del agua de inmersión significativamente más ($P < 0.05$) que MTA Fillapex, Pulp Canal Sealer y que AH Plus, durante los primeros 14 días de inmersión. El pH de BioRoot RCS fue aprox. 11-12 durante los primeros 14 días, luego, después de 28 días, el pH disminuyó a 8.7, pero la alcalinización todavía estaba presente; en particular, la actividad alcalinizante fue significativamente mayor ($P < 0.05$) que MTA Fillapex durante los primeros 14 días de inmersión. AH Plus tenía un pH de 7.1-7.8, mientras que Pulp Canal Sealer demostró una acidificación débil del agua de remojo, especialmente en los primeros 3 días de inmersión (34).

Cementos enriquecidos con AgNPs

Existen diversos estudios donde se comprueba la efectividad de las AgNPs, así como su contribución a la mejora del efecto antimicrobiano de varios tipos de cementos empleados en endodoncia. En el 2012 Magalhães *et al.*, evaluaron el cargado de AgNPs en los cementos Sealapex, Rely X ARC y Vitrebond. Entre los resultados más representativos, los autores encontraron que el único cemento al que se le potenció la actividad antibacteriana fue el Vitrebond, que solo presentó actividad antibacteriana al estar cargado con las AgNPs. El resultado contradictorio observado para el Sealapex, que demostró actividad antibacteriana nula aún estando cargado con AgNPs, fue atribuido a su concentración alta de óxido de calcio (20%) y a la ausencia de agua durante el cultivo bacteriano (el cultivo fue llevado a cabo en medio semisólido de agar). La difusión de iones Ag^+ se ve obstaculizada en medio sólido (22).

En otro estudio, Samiei *et al.*, analizaron los halos de inhibición del crecimiento de distintas bacterias: *E. faecalis*, *Candida albicans*, *Pseudomona aeruginosa* y *Streptococcus aureus*, en presencia de cemento Agregado de Trióxido Mineral Blanco (MTA, Angelus) y la mezcla de MTA con AgNPs (AgNPs/MTA, 1% en peso). Los resultados de la prueba t de Student revelaron que para *E. faecalis*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*, la zona de inhibición microbiana de AgNPs/MTA fue significativamente mayor que la de MTA ($p < 0.05$). La prueba U de Mann-Whitney no indicó diferencia significativa entre el efecto de ambas formulaciones en la inhibición de *S. aureus* ($p > 0.05$). Con base en estos resultados, los autores concluyeron que la adición de AgNPs al MTA mejoró su eficacia antimicrobiana (38).

En otro estudio se evaluó la eficacia antimicrobiana de un sellador a base de óxido de zinc cargado con AgNPs y nanopartículas de óxido de zinc, comparados con un sellador de óxido de zinc simple, contra *E. faecalis*. Se estudiaron tres grupos; Grupo I: grupo control donde los dientes fueron obturados con sellador de óxido de zinc solo. Grupo II: los dientes se obturaron usando el sellador óxido de zinc con AgNPs, y el Grupo III: los dientes se obturaron usando sellador de óxido de zinc con nanopartículas de óxido de zinc. Después de tres semanas de la obturación, el cemento con AgNPs

tuvo un efecto antibacteriano superior, presentándose una diferencia significativa entre los tres grupos probados (39). En el análisis de otro estudio se evaluaron los cementos *GuttaFlow 2* a base de silicona, en comparación con el sellador a base de resina epoxi (AH Plus) y otro cemento a base de óxido de zinc y eugenol (Endofill), modificándolos con AgNPs para ver la actividad antimicrobiana contra *E. faecalis*. Los selladores recién mezclados se sometieron a la prueba de difusión en agar (ADT, por sus siglas en inglés), mientras que la prueba de contacto directo (DCT, por sus siglas en inglés) se realizó después del fraguado de los materiales. Los resultados de ADT se obtuvieron a través de medidas, en milímetros, de las zonas de inhibición, utilizando un calibrador digital. En el DCT, los valores de CFU/ml de los tres selladores se compararon en tres períodos experimentales (1 min, 1 h y 24 h); dando como resultado mediante el análisis post-hoc de Kruskal-Wallis y Dunn ($p < 0.05$), tanto en ADT como en DCT, que el GuttaFlow 2 no presentó ningún efecto contra *E. faecalis*, mientras que Endofill y AH Plus mostraron zonas de inhibición similares. El Endofill fue el único material capaz de reducir el crecimiento bacteriano en DCT (40). En otro estudio, Pourhashemi *et al.*, analizaron el efecto antibacteriano y el efecto de supresión de la biopelícula de *E. faecalis*, mediante diferentes vehículos con hidróxido de calcio como medicamento intraconducto a corto y largo plazo. Se formaron 4 grupos a evaluar: hidróxido de calcio con solución salina normal (grupo 1), hidróxido de calcio con clorhexidina (grupo 2), hidróxido de calcio con suspensión de AgNPs (grupo 3) y solución salina como grupo control (grupo 4). Se hicieron cultivos de cada grupo después de una semana y un mes, y se contó el número de colonias. Como resultado, todos los medicamentos intraconducto produjeron una disminución significativa en el número de colonias en comparación con el grupo control en ambos períodos de incubación. Después de una semana, la mezcla de hidróxido de calcio y AgNPs fue el medicamento más efectivo contra la bacteria *E. faecalis* ($p < 0.05$). No hubo diferencia significativas en el efecto antibacteriano de los medicamentos después de un periodo de 1 mes de incubación ($p > 0.05$) (41).

JUSTIFICACIÓN

Existen en el mercado distintos tipos de cementos selladores cuya eficacia a nivel clínico ha sido demostrada. No obstante, debido a la compleja anatomía del sistema de conductos radiculares y a la resistencia que presentan las bacterias alojadas en su interior, se vuelve imperiosa la necesidad de potenciar/promover la actividad antibacteriana del cemento sellador de elección.

La información obtenida a partir de este proyecto nos permitirá identificar condiciones experimentales que potencien la actividad antibacteriana del cemento endodóntico BioRoot RCS. Esta información puede ser de importancia clínica para estudios posteriores.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las bacterias resistentes de los conductos radiculares presentes en anatomía dental complicada o zonas imposibles de desinfectar son uno de los factores etiológicos principales en fracaso del tratamiento de conductos. Debido a lo anterior, resulta de vital importancia desarrollar sistemas que además de desempeñar una función de relleno y sellado sean capaces de desplegar actividad antibacteriana. En el presente proyecto se plantea el cargado de AgNPs en el cemento endodóntico BioRoot RCS como una estrategia para potenciar su actividad antibacteriana.

HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo

El cargado de AgNPs en el cemento endodóntico BioRoot RCS potenciará su actividad antibacteriana.

Hipótesis nula (H0)

Las bacterias inoculadas en el medio de cultivo presentarán un porcentaje alto de proliferación al ser incubadas en presencia del cemento cargado con AgNPs, sin diferencia estadísticamente significativa con respecto a bacterias inoculadas e incubadas sin tratar y con bacterias inoculadas e incubadas en presencia de cemento cargado con el antibiótico tetraciclina, de cemento sin cargar y de tetraciclina en solución acuosa, con un nivel de confianza de 95%.

Hipótesis alternativa (H1)

Las bacterias inoculadas en el medio de cultivo presentarán un porcentaje de proliferación inferior al ser incubadas en presencia del cemento cargado con AgNPs, con diferencia estadísticamente significativa con respecto a al menos uno de los siguientes sistemas: bacterias inoculadas e incubadas sin tratar, bacterias inoculadas e incubadas en presencia de cemento cargado con el antibiótico tetraciclina, bacterias inoculadas e incubadas en presencia de cemento sin cargar y bacterias inoculadas e incubadas en presencia de tetraciclina en solución acuosa, con un nivel de confianza de 95%.

OBJETIVOS

Objetivo general:

El objetivo general de este proyecto es cargar AgNPs en el cemento endodóntico BioRoot RCS para evaluar su efecto en la inhibición de crecimiento bacteriano.

Objetivos particulares:

1. Cargar el cemento endodóntico BioRoot RCS con AgNPs.
2. Cargar el cemento endodóntico BioRoot RCS con el antibiótico tetraciclina.
3. Evaluar la actividad antibacteriana del cemento cargado con AgNPs, en comparación con cemento cargado con tetraciclina, cemento sin cargar y tetraciclina en solución acuosa, a través de ensayos organolépticos.
4. Evaluar la actividad antibacteriana del cemento cargado con AgNPs, en comparación con cemento cargado con tetraciclina, cemento sin cargar y tetraciclina en solución acuosa, a través de espectroscopia de UV-visible.
5. Llevar a cabo análisis estadístico para determinar si existe diferencia significativa en la actividad antibacteriana del cemento BioRoot RCS promovida por las AgNPs, en comparación con cemento cargado con tetraciclina, cemento sin cargar y tetraciclina en solución acuosa.

VARIABLES

Variable independiente

1. Naturaleza de la carga del cemento.

Variable dependiente

1. Inhibición del crecimiento bacteriano.

Operación de variables

A los tres sistemas: (i) cemento cargado con AgNPs, (ii) cemento cargado con tetraciclina y (iii) cemento sin cargar, se les evaluará su efecto antibacteriano mediante ensayos *in-vitro*. Se evaluará el crecimiento de bacterias inoculadas en el caldo de cultivo en presencia de cada uno de los sistemas de manera cualitativa y cuantitativa a través de ensayos organolépticos (cambio en la turbidez del caldo de cultivo) y espectroscopia de UV-visible (cambios en la absorbancia del caldo de cultivo), respectivamente. Como controles se emplearán una solución acuosa de tetraciclina y un cultivo de bacterias sin tratar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Experimental

Universo de estudio

Tres grupos de pastillas de cemento endodóntico BioRoot RCS y dos controles: Grupo 1: Pastillas de cemento BioRoot RCS cargado con AgNPs, Grupo 2: Pastillas de cemento BioRoot RCS cargado con tetraciclina, Grupo 3: Pastillas de cemento BioRoot RCS (sin cargar), Control 1: Tetraciclina en solución acuosa y Control 2: Caldo de cultivo bacteriano sin tratar.

Metodología

Materiales

El cemento endodóntico BioRoot RCS fue de la marca Septodont (Saint-Maur-des-Fossés, Cedex, Francia). Las AgNPs fueron sintetizadas y donadas por el Laboratorio de Cultivo Celular y Microscopia Confocal del Instituto Tecnológico de Tijuana. La tetraciclina fue de la marca Sigma- Aldrich. Como medio de conservación bacteriano se empleó Agar de Soya Trypticaseína (TSA, por sus siglas en inglés) de la marca BD Bioxon. Como medio de cultivo bacteriano se empleó Infusión Corazón Cerebro (BHI, por sus siglas en inglés) de la marca BD Bacto. La bacteria *E. faecalis* fue donada por la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California. Para la caracterización por UV se empleó un espectrofotómetro Genesys 10uv de la marca Thermo Elctron Corpotation y cubetas de vidrio de 1/2" de diámetro de la marca Thermo Scientific.

Preparación de las muestras

Las AgPNs fueron sintetizadas en solución siguiendo el procedimiento reportado por Murugadoss y Chattopadhyay (42).

Cada pastilla de cemento fue preparada respetando las proporciones recomendadas por el fabricante. Para el cemento sin cargar, se emplearon 264.5 mg de cemento y 82.5 μ l la solución acuosa de NaCl incluido en el kit. Para el cemento cargado con AgNPs, se emplearon 264.5 mg de cemento y 82.5 μ l la solución acuosa de AgNPs (equivalente a un porcentaje de cargado de precursor de plata en el cemento de 0.002%). Para el cemento cargado con tetraciclina, se emplearon 264.5 mg de cemento, 0.15 mg de tetraciclina y 82.5 μ l la solución acuosa de NaCl incluido en el kit (equivalente a un porcentaje de cargado de fármaco en el cemento de 0.06%). El cemento y la tetraciclina fueron mezclados en fase sólida previa a la adición de la solución de NaCl. En todos los casos, las pastillas fueron preparadas empleando un molde cilíndrico de plástico con dimensiones de 3 y 7 mm de altura y diámetro, respectivamente **Figura 9**. Para su fraguado, las pastillas fueron incubadas a 37 °C en atmósfera húmeda por 1 h y a temperatura y humedad ambiente por 12 h adicionales. Tras su fraguado, las pastillas fueron desmoldadas y estandarizadas a pesos promedio de 234.4 mg (Grupo 1), 264.2 mg (Grupo 2) y 262.8 mg (Grupo 3), para su uso posterior **Figura 10**. Para el caso del control de tetraciclina (Control 1), se preparó una solución acuosa del fármaco a una concentración de 0.42 mg/ml. Toda la experimentación se llevó a cabo en condiciones de esterilidad en el interior de una cabina de flujo laminar **Figura 11**.

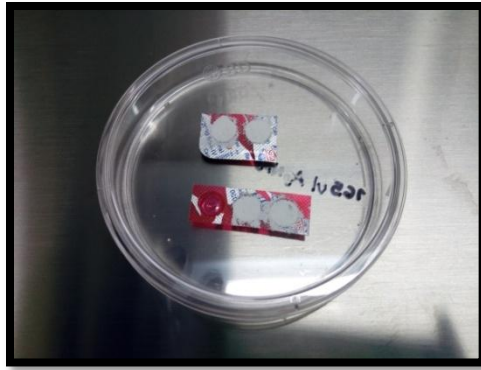


Figura 9. Elaboración de las pastillas del cemento en moldes de plástico.



Figura 10. Pastillas de cemento BioRoot RCS.

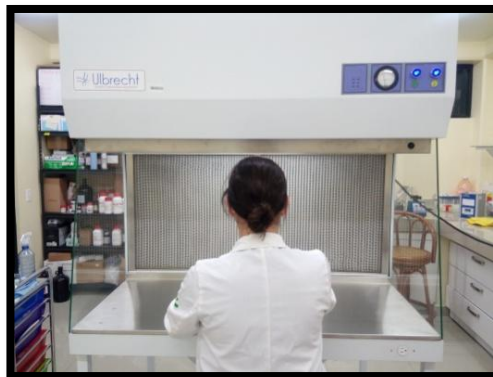


Figura 11. Área estéril, cabina de flujo laminar.

Condiciones de cultivo bacteriano

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 **Figura 12**, a una concentración de 7 asadas de la cepa bacteriana por 5 ml BHI estéril. **Figura 13**. A partir de la suspensión madre se prepararon dos suspensiones de trabajo: una para los cementos y el Control 2 y otra para el Control 1. Para la experimentación con los cementos y el Control 2, se tomaron 10 µl de la suspensión madre y se diluyeron en 5 ml de BHI fresco estéril contenido en tubos de vidrio para hemólisis. Para la experimentación con el Control 1, se tomaron 10 µl de la suspensión madre y se diluyeron en 4.6 ml de BHI fresco estéril. Para el caso de las pastillas de cemento de las distintas formulaciones, estas fueron añadidas a su respectiva suspensión de trabajo tan pronto como esta fue preparada, a razón de una pastilla por tubo (tres experimentos por formulación). Para el caso de la tetraciclina (Control 1), 400 µl de la solución acuosa preparada (ver sección: Preparación de muestras) fueron añadidos a la suspensión de trabajo correspondiente. Los sistemas resultantes fueron incubados por 24 h a 35 ± 2 °C en atmósfera húmeda para la evaluación del efecto antibacteriano. Toda la experimentación se llevó a cabo en condiciones de esterilidad.



Figura 12. Crecimiento de *E. faecalis* en TSA.

En la fotografía se muestra el TSA con coloración blanquecina que indica el crecimiento de las bacterias tras 24 h de incubación en condiciones de cultivo bacteriano.



Figura 13. Preparación de la suspensión bacterias en caldo BHI.

Caracterización a través de ensayos organolépticos

Tras la incubación de los 3 grupos de muestras y los dos controles durante 24 h en condiciones de cultivo bacteriano, los tubos de hemólisis fueron puestos a contra luz sobre un fondo blanco para evaluar cambios en la turbidez del caldo de cultivo, utilizando como blanco de comparación con 5 ml de caldo de cultivo estéril y caldo con bacterias sin tratar contenidos en tubos de vidrio para hemólisis.

Caracterización a través de espectroscopia de UV-visible

Tras la incubación de los 3 grupos de muestras y los dos controles durante 24 h en condiciones de cultivo bacteriano, se extrajeron 2 ml de medio de cultivo del interior del tubo de vidrio para hemólisis con una micropipeta y fueron depositados en el interior de una cubeta de vidrio. La absorbancia de la muestra fue medida con un espectrofotómetro Genesys 10uv **Figura 14** a una longitud de onda de 540 nm. Se utilizó medio BHI estéril para hacer la calibración del equipo. Previo a su medición, cada muestra fue homogeneizada mediante agitación suave por 30 s con agitador Vórtex.

Se determinó el porcentaje de *E. faecalis* presentes en el medio de cultivo, resultante de su proliferación en el medio a las distintas condiciones experimentales. El porcentaje reportado se calculó a través de la siguiente expresión:

$$\text{Bacterias en el caldo (\%)} = \frac{A_m}{A_T} * 100 \quad [1]$$

donde: A_m representa la absorbancia promedio de cada uno de los tres grupos de interés y del Control 1 y A_T representa la absorbancia promedio del Control 2.



Figura 14. Espectrofotómetro Genesys 10 uv.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo empleando el método “t de Student” de Análisis de la Varianza (ANOVA). La diferencia estadística fue considerada como significativa a $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la supervivencia bacteriana por ensayos organolépticos

En la **Figura 15** y **Figura 16** se muestran fotografías representativas de los tubos de vidrio para hemólisis que contenían caldo de cultivo de los Grupos 1-3 y de los Controles 1 y 2, tras 24 h de incubación con la bacteria *E. faecalis*. Adicionalmente, se incluye como blanco de comparación un tubo de vidrio para hemólisis con caldo de cultivo estéril.

En el panel A de las **Figura 15** y **Figura 16** se compara el caldo de cultivo estéril (rectángulo) con el caldo de cultivo del control de bacterias sin tratar (Control 2, círculo). A partir de este panel, se puede observar una clara diferencia en la turbidez de ambos sistemas. El caldo del Control 2 (círculo) presentó una turbidez marcada que impidió el paso de la luz a través de él y por tanto la observación de la gradilla que sostenía los tubos. Esta turbidez marcada se atribuye a la presencia de una concentración alta de bacterias, que resultan de su proliferación tras 24 h de incubación en el medio de cultivo. Debido a su naturaleza sólida, las bacterias fueron capaces de absorber y/o bloquear la luz que las iluminaba, causando por tanto un aumento en la turbidez del caldo que las contenía. Por el contrario, el caldo de cultivo estéril (rectángulo) presentó transparencia a la luz, ofreciendo la posibilidad de observar claramente la gradilla a través de él y demostrando, por tanto, la ausencia total de bacterias.

En los paneles B-E de la **Figura 15**, se compara el caldo del Control 2 (bacterias sin tratar, círculo) con el caldo de cultivo de los Grupos 1-3 (estrella, rombo y triángulo) y Control 1 (pentágono), respectivamente. A través de estos paneles, se puede observar que el caldo de cultivo del Grupo 1 (pastilla de cemento BioRoot RCS cargado con AgNPs, estrella) fue el único que presentó diferencia apreciable en turbidez con respecto al del Control 2 (panel B), demostrando ser más transparente. Esta

Resultados y Discusión

transparencia sobresaliente se confirma al observar los paneles B-E de la **Figura 16** donde se comparan todas las muestras con respecto a una muestra de caldo de cultivo estéril. En particular, a partir del panel B se observa que el caldo de cultivo del Grupo 1 (pastilla de cemento BioRoot RCS cargado con AgNPs, estrella) presentó una transparencia a la luz cercana a la del caldo de cultivo estéril. No se observó diferencia en la turbidez (o transparencia) tras las comparaciones cruzadas del resto de sistemas (ver paneles A-E de la **Figura 15** y **Figura 16**).

Con base en lo ya discutido, estas imágenes reflejan que el cargado de AgNPs en el cemento endodóntico BioRoot RCS (Grupo 1) dio lugar a resultados muy satisfactorios en lo que respecta a la actividad antibacteriana del último, con diferencia marcada con respecto al resto de Grupos y Controles. Lo que se observó fue una disminución ostensible en la turbidez del caldo de cultivo en el que se incubaron las bacterias en presencia de este cemento por 24 h, que presentó una transparencia cercana a la observada en el medio de cultivo estéril. Estos resultados organolépticos (cualitativos) fueron confirmados de manera cuantitativa a través de ensayos por espectroscopia de UV-visible, mismos que se discuten en la siguiente subsección.

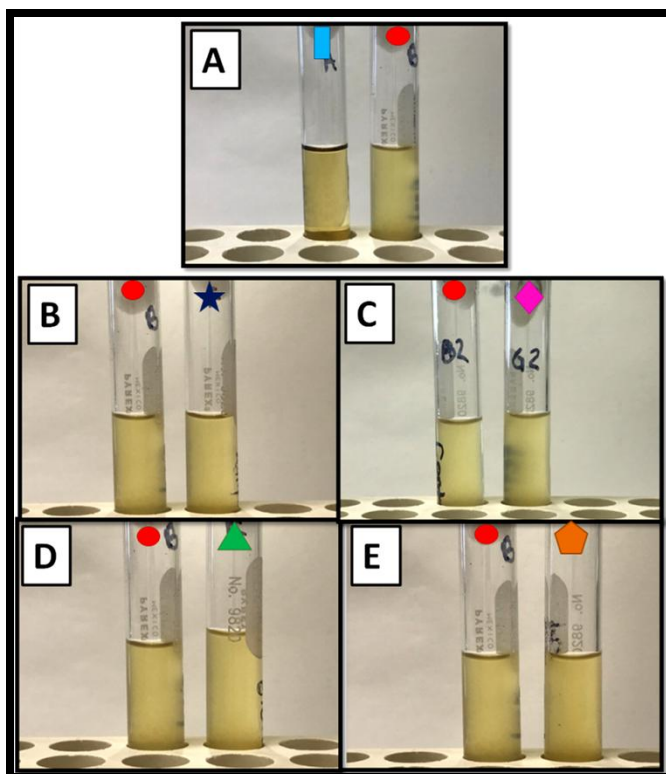


Figura 15. Imágenes comparativas de muestras de caldo de cultivo estéril (A), de los Grupos 1-3 (B-D) y del Control 1(E), con respecto a caldo de cultivo del Control 2.

Los tubos marcados con las figuras de rectángulo, círculo, estrella, rombo, triángulo y pentágono corresponden a las muestras de caldo de cultivo estéril, Control 2, Grupo 1, Grupo 2, Grupo 3 y Control 1, respectivamente. El tiempo de incubación de la bacteria *E. faecalis* tanto de los Controles 1 y 2 como de los Grupos 1 - 3 fue de 24 h. Las imágenes mostradas corresponden a fotografías representativas de cada experimento, tomadas tras cumplirse las 24 h de incubación.

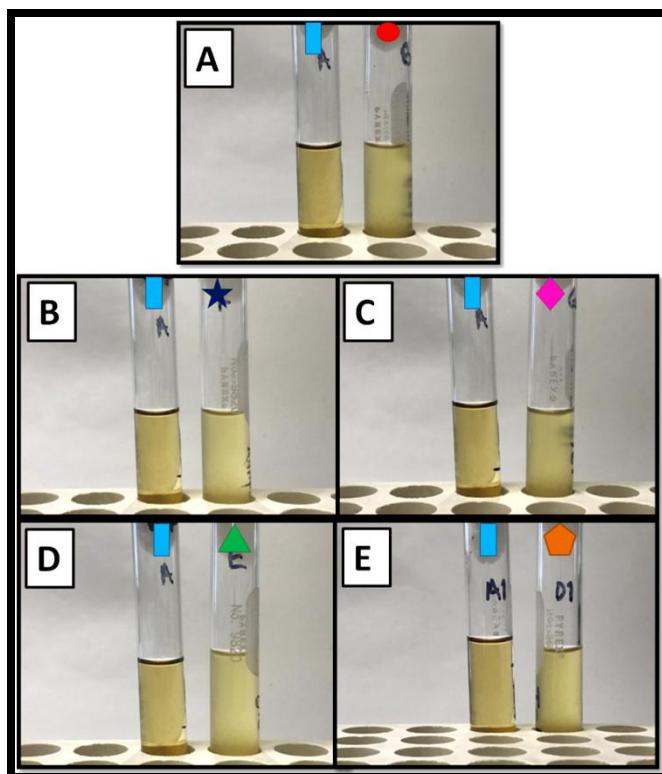


Figura 16. Imágenes comparativas de muestras de caldo de cultivo del Control 2 (A), Grupos 1-3 (B-D) y Control 1 (E), con respecto a una muestra de caldo de cultivo estéril.

Los tubos marcados con las figuras de rectángulo, círculo, estrella, rombo, triángulo y pentágono corresponden a las muestras de caldo de cultivo estéril, Control 2, Grupo 1, Grupo 2, Grupo 3 y Control 1, respectivamente. El tiempo de incubación de la bacteria *E. faecalis* tanto de los Controles 1 y 2 como de los Grupos 1 - 3 fue de 24 h. Las imágenes mostradas corresponden a fotografías representativas de cada experimento, tomadas tras cumplirse las 24 h de incubación.

Evaluación de la supervivencia de las bacterias por espectroscopia de UV-visible

En la **Figura 17** se presenta el porcentaje de bacterias *E. faecalis* encontradas en el medio de cultivo en el que fueron incubadas durante 24 h en presencia de las pastillas de cemento con las distintas formulaciones (Grupos 1-3), teniendo como blancos de comparación una suspensión de bacterias en presencia de tetraciclina en solución acuosa (Control 1) y una suspensión de bacterias sin tratamiento (Control 2). Los resultados obtenidos por espectroscopia de UV-visible confirman lo observado a través de los ensayos organolépticos. A partir de la **Figura 17** se demuestra que las pastillas de cemento BioRoot RCS cargado con AgNPs (Grupo 1) dieron lugar a una inhibición marcada en la proliferación de bacterias a un tiempo de incubación de 24 h, alcanzando valores de hasta 50% en la reducción del crecimiento del microorganismo, con diferencia estadísticamente significativa con respecto a las pastillas de cemento BioRoot cargado con tetraciclina (Grupo 2) y sin cargar (Grupos 3) y los controles de bacterias en presencia de tetraciclina (Control 1) y bacterias sin tratamiento (Control 2). Asimismo, se puede observar que la cantidad de bacterias encontradas en el caldo de cultivo de los Grupos 2 y 3 no presentan diferencia significativa ni con respecto a los controles, ni entre ambos grupos. En conjunto, y presentando muy buena concordancia con los resultados arrojados por los ensayos organolépticos, estos resultados exhiben que las pastillas de cemento BioRoot RCS cargado con AgNPs presentan actividad antibacteriana sobresaliente, con diferencia estadísticamente significativa con respecto al resto de los sistemas objeto de estudio.

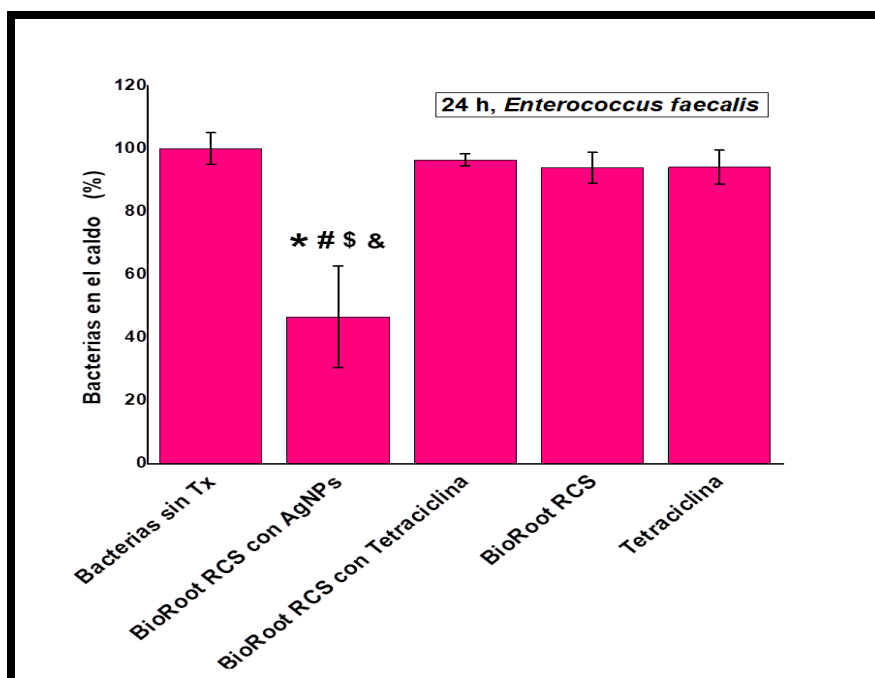


Figura 17. Porcentaje de bacterias *E. faecalis* encontradas en el caldo de cultivo tras su incubación en presencia de BioRoot RCS, Tetraciclina y BioRoot RCS cargado con AgNPs y Tetraciclina por 24 h.

Las columnas representan el promedio de los resultados obtenidos para al menos tres experimentos con cada formulación, de acuerdo a la expresión [1] (ver sección experimental). Las barras verticales representan la desviación estándar. Se estudiaron como blancos de comparación bacterias en presencia de tetraciclina (Control 1) y bacterias sin tratar (Control 2). Los símbolos *, #, \$ y & denotan diferencia significativa en la proliferación de bacterias sin tratar y bacterias incubadas en presencia de BioRoot RCS cargado con tetraciclina, BioRoot RCS sin cargar y tetraciclina, respectivamente; $p < 0.05$. No se encontró diferencia significativa entre el resto de los sistemas. Los sistemas objeto de estudio fueron añadidos a su respectiva suspensión de bacterias tan pronto como esta fue preparada. La caracterización por UV-visible fue llevada a cabo inmediatamente después de cumplirse las 24 h de incubación.

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

Conclusión

Se caracterizó la actividad de pastillas de cemento BioRoot RCS cargado con AgNPs (Grupo 1), pastillas de cemento BioRoot RCS cargado con tetraciclina (Grupo 2), pastillas de cemento BioRoot RCS sin cargar (Grupo 3) y Tetraciclina (Control 1) en la inhibición de crecimiento de la bacteria *E. faecalis* en caldo de cultivo. Las conclusiones se enlistan a continuación:

1. Los ensayos organolépticos demostraron una turbidez alta en el medio de cultivo del control de bacterias sin tratar (Control 2), con diferencia marcada en comparación con el medio de cultivo donde se incubaron las bacterias en presencia del cemento BioRoot RCS cargado con AgNPs (Grupo 1).
2. A su vez, los medios de cultivo donde se incubaron las bacterias en presencia del cemento BioRoot RCS cargado tetraciclina, cemento BioRoot RCS sin cargar y tetraciclina demostraron una turbidez equivalente a la exhibida por el caldo de cultivo donde se incubaron las bacterias sin tratar, sin mostrar diferencia entre ellos.
3. En lo que respecta a la caracterización por espectroscopia de UV-visible, se determinó que el cargado de AgNPs en el cemento endodóntico BioRoot RCS presentó un marcado efecto antibacteriano, dando lugar a una inhibición de la proliferación bacteriana de ca. 50%, con diferencia significativa con respecto al resto de los sistemas objeto de estudio, incluyendo los controles, con un nivel de confianza del 95%.
4. Asimismo, se determinó que no hubo diferencia estadísticamente significativa en la proliferación bacteriana entre los cultivos incubados en presencia del cemento

Conclusión y Recomendaciones

cargado con tetraciclina, cemento sin cargar y tetraciclina, ni entre cada uno de ellos con respecto al cultivo bacteriano sin tratar.

5. En conjunto, los resultados obtenidos por ambas caracterizaciones demostraron que el cargado de AgNPs en el cemento endodóntico BioRoot RCS dota al material de obturación de un efecto antibacteriano efectivo contra la bacteria *E. faecalis*, misma que constituye uno de los microorganismos más resistentes encontrados en el sistema de conductos radicular.
6. Con base en todo lo anterior, se confirma la hipótesis alternativa (H1) de este proyecto.

Recomendaciones

Como trabajo a futuro, se recomienda explorar el cargado del cemento BioRoot RCS con concentraciones más altas de AgNPs y caracterizar los sistemas resultantes en términos de su actividad antibacteriana y citocompatibilidad. Asimismo, se recomienda caracterizar de manera detallada las propiedades físico-químicas y mecánicas del cemento y su posible cambio como resultado del cargado con las AgNPs. Con respecto a las AgNPs, se recomienda caracterizar su tamaño y morfología. Finalmente, se recomienda evaluar si existe un efecto en la coloración natural de órganos dentales tratados con el cemento BioRoot RCS cargado con AgNPs.

REFERENCIAS.

1. Carlos CSBAE. Endodoncia, Técnicas Clínicas y bases científicas. 3a Edición. Elsevier, editor. España S.L; 2014. 462 p.
2. Estrela C. Ciencia Endodóntica. 1° Edición. Panamericana EM, editor. Sao Paulo; 2005. 1032 p.
3. 1. Kenneth H. Hargreaves SC. Vías de la Pulpa. 10a Edició. Elsevier, editor. 2011. 1082 p.
4. Soares Ilson José GF. Endodoncia Técnica y fundamentos. 1a Ed. Ed. Médica Panamericana, editor. Buenos Aires, Argentina; 2002. 326 p.
5. Sundqvist G, Figdor D, Endo D, Persson S. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. 1998;85(1):86–93.
6. Ureña JL. Microbiología Oral. 2° Edición. McGraw-Hill-Interamericana, editor. Madrid; 2002.
7. Costerton JW, Lewandowski Z, Debeer D, Caldwell D, Korber D. MINIREVIEW Biofilms , the Customized Microniche. 1994;176(8):2137–42.
8. Graduados E De, Endodoncia E De. Seminario : Microbiología de los conductos radiculares. 2013.
9. Rôças IN, Jr JFS. Root Canal Microbiota of Teeth with Chronic Apical Periodontitis Root Canal Microbiota of Teeth with Chronic Apical Periodontitis □ †. 2008;46(11).
10. Sakamoto M, Jr SJF. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. 2007;19–23.
11. Evans M, Davies J K, Sundquist G FD. Mechanisms Involved in the resistance of

- Enterococcus faecalis to calcium hydroxide. Int Endod J. 2002.
12. Figdor D, Jk D, Starvation SG. Starvation survival , growth and recovery of Enterococcus faecalis in human serum. 2003;234–9.
 13. Encinas FS, Barbero EG. Biofilm . Un nuevo concepto de infección en Endodoncia. 2010;28(Nº 4):241–56.
 14. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. 1997;297–306.
 15. Baumgartner JC, Falkler WA. Bacteria in the Apical 5 mm of Infected Root Canals. 1991;17(8):380–3.
 16. Efficacy of calcium hydroxide dressing in endodontic infection treatment: a systematic review. 2008;23(1):82–6.
 17. Holland R, Felício P, Bernabé E. Antimicrobial Potential of Medicaments Used in Healing Process in Dogs ' Teeth with Apical Periodontitis. 2004;15:181–5.
 18. Vera J, Siqueira F, Ricucci D, Flores B, Loghin S, Fern N. One- versus Two-visit Endodontic Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Histobacteriologic Study. 2012;1–13.
 19. Efectividad de una pasta tri-antibiótica en pieza decidua necrótica con absceso periapical y fístula. 2012;15(2):31–4.
 20. Vijayaraghavan R, Mathian VM. Triple antibiotic paste in root canal therapy. 2012;4(August).
 21. Takushige T, Cruz E V, Moral AA, Hoshino E. Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. 2004;(Hoshino 1985):132–8.
 22. Magalhães APR, Santos LB, Lopes LG, Estrela CR de A, Estrela C, Torres ÉM, et al. Nanosilver Application in Dental Cements. ISRN Nanotechnol [Internet]. 2012;2012:1–6. Available from:

- <http://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/365438/>.
23. Sintubin L, De Gusseme B, Van Der Meeren P, Pycke BFG, Verstraete W, Boon N. The antibacterial activity of biogenic silver and its mode of action. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011;91(1):153–62.
 24. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. *Trends Biotechnol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2010;28(11):580–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.07.006>.
 25. Durner J, Stojanovic M, Urcan E. Influence of silver nano-particles on monomer elution from light-cured composites. 2011;7:631–6.
 26. Mirzajani F, Ghassempour A, Aliahmadi A, Esmaeili MA. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Res Microbiol* [Internet]. Elsevier Masson SAS; 2011;162(5):542–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2011.04.009>.
 27. Corrêa JM, Mori M, Sanches HL, Cruz AD Da, Poiate E, Poiate IAVP. Silver nanoparticles in dental biomaterials. *Int J Biomater*. 2015;2015.
 28. Felipe J, Bruniera B, Silva-sousa YTC, Lara G, Pitondo-silva A, Marcaccini AM, et al. Development of Intracanal Formulation Containing Silver Nanoparticles. 2014;25:302–6.
 29. Patiño-marin N, Niño-martínez N, Morán-martínez J. Bactericide Effect of Silver Nanoparticles as a Final Irrigation Agent in Endodontics on *Enterococcus faecalis* : An Ex Vivo Study. 2016;2016.
 30. Gunnar Bergenholtz, Preben Horsted-Bindslev CR. Endodoncia. 2da Edició. Moderno M, editor. México D.F; 2011. 371 p.
 31. Edition F. Guide to Clinical Endodontics American Association of Endodontists. 2004;3636.

32. Yalvac ME, Ersev H, Tanalp J. Cytotoxicity of 5 endodontic sealers on L929 cell line and human dental pulp cells. 2011;(Gluskin 2005):626–34.
33. Shen YA, Peng BIN, Yang YAN, Ma J, Haapasalo M. What do different tests tell about the mechanical and biological properties of bioceramic materials? 2015;(11):47–79.
34. Siboni F. Properties of BioRoot RCS , a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. 2017;120–36.35. Camps J, Jeanneau C, Laurent P. Bioactivity of a Calcium Silicate – based Endodontic Cement (BioRoot RCS): Interactions with Human Periodontal Ligament Cells In Vitro. J Endod [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;5–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2015.04.011>.
36. Camilleri J. The effect of the final irrigant on the antimicrobial activity of root canal sealers. J Dent [Internet]. Elsevier Ltd; 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2016.06.008>.
37. Baudry A, Richard G, Kellermann O, Goldberg M. In vitro bioactivity of Bioroot TM RCS , via A4 mouse pulpal stem cells. Dent Mater [Internet]. The Academy of Dental Materials; 2015;1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2015.08.163>.
38. Samiei M, Aghazadeh M, Lotfi M, Shakoei S, Aghazadeh Z, Mahdi S, et al. Antimicrobial Efficacy of Mineral Trioxide Aggregate with and without Silver Nanoparticles. 2013;8(4):166–70.
39. Bds HFM, Ibrahim MM, El-fattah AEHA, Shalaby TI. Antibacterial effect of two types of nano particles incorporated in zinc oxide based sealers on enterococcus faecalis (in vitro study). 2016;41:169–75.
40. Wainstein M, Gonçalves SB. In vitro antibacterial activity of a silicone-based endodontic sealer and two conventional sealers. 2016;30:1–5.
41. Pourhashemi SJ, Afkhami F, Sadegh M, Salehi Y, Javad M, Fard K. Antibiofilm

Referencias

- Efficacy of Silver Nanoparticles as a Vehicle for Calcium Hydroxide medicament against *Enterococcus faecalis* Short title: Antibiofilm efficacy of nanosilver modified medicament. Elsevier Ltd [Internet]. Elsevier Ltd; 2015; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2015.08.012>.
42. Murugadoss A, Chattopadhyay A. A “ green ” chitosan – silver nanoparticle composite as a heterogeneous as well as micro-heterogeneous catalyst. 2008.