



BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA

TERMINAL EN ENDODONCIA

TESIS

“Actividad antimicrobiana *in vitro* de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra *E. faecalis* y *C. Albicans*”

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON
OPCIÓN TERMINAL EN ENDODONCIA

PRESENTA:

C.D Tanya Chepetla Núñez

MAT: 221450001

Director (a) de tesis: D.C. Brenda Eréndida Castillo Silva. NSS 526469

Director (a) disciplinario: C.D.E.E Emilio García Manzanero. ID 100536604

Director (a) Metodológico: D.C. Cristián Dionisio Román Méndez. ID 100392244

Asesor externo (a): D.C. Nuria Patiño Marín

Puebla, Puebla. Junio 2023



BUAP

Oficio No. FESIEP/CIFE/068/2023

C. Tanya Chepetla Núñez
Alumna de la Maestría en Estomatología
con opción en Terminal en Endodoncia
Matrícula No.: 221450001
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, el que suscribe MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; por este medio me permito informar a Usted, que, está Secretaría de Posgrado ~~aprueba la impresión de la Tesis titulada:~~

"Actividad antimicrobiana in vitro de los selladores biocerámicos de última generación:
EndoSequence BC Sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra *E. faecalis* y *C. albicans*."

misma que presentará ~~para realizar su examen profesional y obtener el grado de Maestra en Estomatología con opción en Terminal en Endodoncia;~~ para su conocimiento y atención correspondiente.

Sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., 12 de junio de 2023

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología



*Se anexa: Formato de Impresión de Tesis (Original) - p.s.c y a.
*C.c.p. Archivo
*MTRO. FJMA/DR.FADV/yaneth

Facultad
de Estomatología

31 Poniente 1304, Col. Volcanes,
Puebla, Pue. C. P. 72410
01 (222) 229 55 00 Ext. 6400

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL

Para obtener el Grado de: **Maestro(a) en Estomatología con opción terminal en Endodoncia**

Registro CIFE: 2023203.

Fecha: lunes 12 de junio del 2023.

Título de la Tesis: "Actividad antimicrobiana in vitro de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC Sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra E. faecalis y C. albicans"

Nombre del alumno: Tanya Chepetla Núñez.

Matrícula: 221450001.

Domicilio: Calle orquídeas # 48, Col. Lomas de Angelópolis I, San Andrés Cholula, Puebla.

Tel: 22*23 58 18 63

Fecha de ingreso a la Facultad: lunes 06 de enero del 2020.

Firma: 

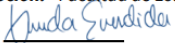
Director de Tesis: DC. Brenda Eréndida Castillo Silva

Grado académico: Doctor en Ciencias Odontológicas.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: NSS526469.

Tel: 44*42 42 60 77.

Firma: 

Director Disciplinario: Lic. Emilio Enrique García Manzanero

Grado académico: Especialista en endodoncia.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100536604.

Tel: 92*11 98 32 18 22.

Firma: 

Director Metodológico: DC. Cristián Dionisio Román Méndez. **Grado académico:** Doctor en Ciencias Químico- Biológicas.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100392244.

Tel: 22* 21 83 83 36.

Firma: 

Lector: DC. Julia Flores Tochiuitl.

Grado académico: Doctor en Ciencias Químico-Biológicas.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100228022

Tel: 22*25 46 67 11.

Firma: 

Nombre y firma de aprobación del Responsable de la Maestría en Estomatología con Opción terminal en Endodoncia.

ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero.

Firma: 

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez



Fecha: lunes 12 de junio del 2023.

Sello _____

Agradecimientos

Al ver el resultado logrado con este ambicioso proyecto, solamente se me ocurre una palabra: ¡Gracias!

Todo el trabajo realizado fue posible gracias al apoyo incondicional de Dante, mi esposo, que estuvo a mi lado en los momentos difíciles, acompañandome y motivandome siempre, a mis hijos, Gael y Sofía, cuya paciencia fue puesta a prueba en incontables ocasiones.

Gracias, también, a mi padre a mi madre y hermanos, ustedes han sido siempre mi mayor ejemplo a seguir.

A mis amigos, que estuvieron para mí siempre, aún cuando yo tuve que ausentarme en algunas ocasiones.

Gracias, Alma Diana y Odette por ser más que compañeras en un posgrado, ustedes son familia, gracias por su cariño y amistad sincera.

A la Dra. Brenda E. Castillo, al Dr Cristian D.Román, al Dr Emilio E. García y al Dr. Rosendo Carrasco, quienes formaron parte importante de este proyecto, con sus aportes profesionales y palabras de aliento en todo momento.

Al Dr. Alejandro G. Martínez, a quien no solo le agradezco el total apoyo que me brindó durante este proyecto, sino también mi formación académica y amistad. Gracias por creer en mí.

Gracias a cada docente que hizo posible mi preparación académica tanto en clínicas como en aulas, sin su pasión, sabiduría, paciencia y entusiasmo nada de esto hubiera sido posible. Este trabajo es el resultado de un sinnúmero de acontecimientos que poco tuvieron que ver con lo académico, sino más bien, con el amor.

Gracias infinitas a ustedes y, por supuesto, a Dios, por ponerlos en mi camino.”

Agradecimiento a CONACYT por la beca otorgada con N°788049.

Tabla de contenido

Índice de tablas y figuras	8
Abreviaturas	9
Introducción.....	11
Antecedentes generales.....	12
Sistema de conductos radiculares	12
El papel de las infecciones en el fracaso de los tratamientos endodónticos	12
Infecciones endodónticas más comunes	13
<i>Enterococcus faecalis</i>	14
<i>Candida albicans</i>	15
El papel de la actividad antimicrobiana de los selladores en el proceso de desinfección y obturación	16
Selladores.....	17
Antecedentes específicos	20
Propiedades antimicrobianas de los selladores biocerámicos utilizados en los tratamientos endodónticos.....	20
Planteamiento del problema	23
Pregunta de investigación	23
Justificación	24
Hipótesis de investigación (HI).....	25
Hipótesis nula (HO).....	25
Objetivo general	26
Objetivos específicos.....	26
Material y métodos.....	27
Diseño de estudio	27
Ubicación espacio temporal.....	27
Universo y muestra.....	27
Definición de las variables.....	29
Técnicas y procedimientos	29
Preparación de los medios.....	30
Preparación del inóculo	31
Inoculación de placas	31
Colocación de los discos e interpretación de los resultados.....	32

Recursos.....	33
Recursos humanos.....	33
Recursos materiales.....	33
Recursos financieros	34
Análisis de los datos	34
Ética y bioseguridad.....	35
Resultados	36
Efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra <i>E. faecalis</i> a 24 y 48 horas.....	36
BioRoot RCS muestra una mayor actividad antimicrobiana contra <i>E. faecalis</i> a las 24 y 48 horas.....	38
Efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra <i>C. albicans</i> a 24 y 48 horas.....	40
Los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus muestran una actividad antimicrobiana contra <i>E. faecalis</i> pero un efecto limitado contra <i>C. albicans</i>	42
Discusión.....	43
Conclusión	46
Bibliografía.....	47

Índice de tablas y figuras

Tabla 1. Estadística descriptiva <i>E. faecalis</i> 24 horas	36
Tabla 2. Estadística descriptiva <i>E. faecalis</i> 48 horas	37
Tabla 3. Analisis comparativo, prueba post hoc Tukey 24 hs.	38
Tabla 4. Analisis comparativo, prueba post hoc Tukey 48 hs.	39
Tabla 5. Estadística descriptiva <i>C. albicans</i> a 24 horas	40
Tabla 6 Estadística descriptiva <i>C. albicans</i> a 48 horas	40

Figura 1. Efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos contra <i>E.faecalis</i> a 24 y 48 horas. A AhPlus biocerámico, B BioRoot RCS y C EndoSequence BC sealer.	37
Figura 2 Imágenes representativas del experimento contra <i>E. faecalis</i>.A AhPlus biocerámico, B BioRoot RCS y C EndoSequence BC sealer.	38
Figura 3. Efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos contra <i>C. albicans</i> a 24 y 48 horas. A AhPlus biocerámico, B BioRoot RCS y C EndoSequence BC sealer.	41
Figura 4 Imágenes representativas del experimento contra <i>C. albicans</i>.A AhPlus biocerámico, B Bioroot RCS y C EndoSequence BC sealer.	41

Abreviaturas

ATCC: American Type Culture Collection

MTA : mineral trióxido agregado

PDLSC células madre del ligamento periodontal

pH : potencial de hidrógeno

RCS: root canal sealer

PCS: Pulp canal sealer

DCT: prueba de contacto directo

Resumen

Objetivo: Diferenciar el efecto antimicrobiano *in vitro* entre 3 cementos selladores biocerámicos según la extensión del halo de inhibición sobre las cepas ATCC10231 de *C. albicans* y ATCC51299 *E. faecalis* durante un periodo de 24 y 48 horas.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio comparativo *in vitro* mediante el método de difusión agar en Mueller Hinton para *E. faecalis* y papa dextrosa para *C. albicans*, se calculó una muestra de 25 replicaciones por cemento sellador biocerámico (EndoSequence BC Sealer, AhPlus biocerámico y BioRoot RCS) cada uno con *C. albicans* y con *E. faecalis* y grupos controles de hidróxido de calcio en cada placa haciendo un total de 75 unidades de estudio frente a la cepa ATCC10231 de *C. albicans* y 75 unidades de estudio frente a la cepa ATCC51299 de *E. faecalis*. La extensión del halo inhibitorio fue medida en milímetros con vernier digital después de las 24 horas y 48 horas de incubación a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2$. Los datos obtenidos fueron registrados en una tabla de excel. **Resultados:** Al analizar los 3 cementos selladores biocerámicos y su efecto antimicrobiano se determinó que estos no poseen una actividad antimicrobiana significativa; sin embargo, el cemento sellador biocerámico que presentó actividad antimicrobiana en mayor proporción fue BioRoot RCS pero solo contra *E. faecalis*, así mismo el tiempo es importante ya que mientras aumenta el tiempo la capacidad de inhibición disminuye considerablemente. **Conclusiones:** De los selladores biocerámicos de última generación BioRoot RCS es el que muestra una mayor actividad antimicrobiana contra *E. faecalis* además que mantiene por mayor tiempo su eficacia, por otro lado, tiene un efecto limitado contra *C. albicans*.

El efecto de los selladores biocerámicos probados tienen una actividad limitada contra *C. albicans*, siendo el AhPlus el que muestra una mayor actividad en comparación con EndoSequence BC sealer.

PALABRAS CLAVE: efecto antimicrobiano; *E. faecalis*; *C. albicans*; cementos selladores biocerámicos; bioRoot rcs; AhPlus biocerámico; EndoSequence bcs; método de difusión agar.

Introducción

La terapia endodóntica juega un papel fundamental en la rehabilitación de los órganos dentarios con daño extenso que involucra el tejido pulpar del diente, debido a que representa un paso importante para el proceso protético y coadyuvante en la meta primordial de lograr prolongar la conservación de los dientes en boca. El tratamiento endodóntico tiene como finalidad la reducción en gran medida de la población bacteriana del complejo sistema de conductos radiculares, mediante la preparación químico-mecánica del conducto radicular; si bien este proceso reduce la cantidad de microorganismos del sistema radicular, numerosos estudios señalan la resistencia y persistencia de infecciones posterior al tratamiento de conductos, lo que incide en el fracaso de los tratamientos endodónticos.

Como profesionales del área de Endodoncia, se ha descrito que durante la obturación es cuando se debe buscar la eficacia en términos de sellado del sistema de conductos radiculares, para prevenir posibles reinfecciones y con ello el fracaso de la terapia endodóntica; por esta razón, es de vital importancia utilizar un sellador endodóntico que proporcione una capacidad antimicrobiana adecuada que permita evitar el desarrollo de infecciones, además de conocer las diferentes opciones existentes en el mercado y las posibles ventajas que puedan presentar éstas con respecto a otros cementos selladores disponibles.

Antecedentes generales

Sistema de conductos radiculares

Un requisito indispensable para evitar el fracaso de los tratamientos endodónticos implica realizar un sellado eficiente que impida la filtración de fluidos y bacterias al sistema de conductos radiculares; dicho sistema está conformado por una organización de conductos que puede seguir la anatomía de la raíz a lo largo de su longitud o separarse en algún punto en lo que se conoce como *bifurcación*, para posteriormente volver a unirse o separarse aún más en conductos laterales, accesorios o ramificaciones; además, existen espacios y comunicaciones que en ocasiones pueden ser muy estrechos y en otras muy amplios y visibles en forma de aletas o istmos (1), los cuales se desarrollan a partir de la etapa embrionaria como consecuencia de un mal cierre de las proyecciones de la formación de la raíz y constituyen zonas de difícil acceso durante la preparación mecánica del conducto, lo cual restringe la entrada de instrumentos impidiendo una adecuada limpieza y conformación permitiendo el alojamiento de microorganismos que podrían causar el fracaso de la terapia de conductos a largo plazo (2).

El papel de las infecciones en el fracaso de los tratamientos endodónticos

Un factor importante en el fracaso de la terapia endodóntica lo constituye el alto índice de infecciones que se desarrollan posterior al proceso de obturación, en valores de prevalencia altos que llegan hasta el 90% (3,4). La enfermedad endodóntica es fundamentalmente de origen microbiano; si bien la pulpa es un tejido conectivo que se aloja dentro del considerado tejido más duro del cuerpo, es estéril en condiciones normales (2). La patogénesis de las infecciones endodónticas tiende a tomar una ruta diferente de acuerdo la etapa de desarrollo del diente y la edad del paciente; si no son tratadas de manera adecuada, el resultado puede ser dañino

para el paciente (3), pues puede convertirse en una periodontitis apical la cual tiene una etiología microbiana y es una de las enfermedades más comunes que afecta a los humanos en cuanto a infecciones endodónticas o bien abscesos agudos y crónicos y la infección puede alcanzar los tejidos perirradiculares (5).

Infecciones endodónticas más comunes

Las infecciones endodónticas se clasifican en: **primarias, secundarias o persistentes**. Esta clasificación se estableció debido a la presencia de microorganismos dentro de los conductos radiculares como a la categoría de los mismos (6). Los microorganismos que predominan en las infecciones endodónticas primarias son en su mayoría anaerobios estrictos, como resultado de las condiciones ecológicas en el conducto radicular tales como nutrientes, bajo potencial de oxidación-reducción, pH, temperatura entre otros y bacterias. Estas infecciones son dominadas en mayor proporción por enterococos, siendo el *E. faecalis* el microorganismo más comúnmente presente. De igual manera, se encuentra la presencia de *C. albicans* (7).

Estudios con diferentes enfoques también han confirmado que *Tannerella forsythia* es un miembro común asociado con diferentes tipos de infecciones primarias, incluidos los abscesos, además de que también se encontró que *Prevotella intermedia* era la bacteria más prevalente en grupos asintomáticos. La microbiota bacteriana está compuesta por algunos otros tipos de bacterias como son: *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*, entre otros (8,9).

La infección secundaria (o infección posterior al tratamiento de conductos), puede darse como resultado a una reinfección (adquirida o emergente), infección remanente (persistente) o infección recurrente (desarrollada en los dientes después de una cicatrización aparente) en dientes con tratamientos de conductos previos. Estas infecciones son polimicrobianas y en ellas predominarán principalmente

Bacteroides, Propyromonas, Prevotella, Fusobacterium, especies de Treponema, Peptostreptococcus, Eubacterium y Camphylobacter (10).

En los casos identificados como infecciones persistentes, éstas son causadas por microorganismos que han ocasionado una infección primaria y han resistido a procedimientos de preparación químico-mecánica. Se ha observado que los microorganismos que permanecen más comúnmente son bacilos anaerobios como *F. nucleatum*, especies de *Prevotella* y *Camphylobacter rectus* o bacterias Gram-positivas, *Streptococci* (*S. mitis*, *S. gordonii*, *S. anginosus*, *S. sanguinis* y *S. oralis*), *P. micra*, especies de *Actinomyces* (*A. israelii* y *A. odontolyticus*), especies de *Propionibacterium* (*P. acnes* y *P. propionicum*), *P. alactolyticus*, *Lactobacilli* (*L. paracasei* y *L. acidophilus*) y *E. faecalis* (11,12).

Enterococcus faecalis

Las especies pertenecientes al género *Enterococcus* se pueden encontrar en múltiples ambientes, como pueden ser tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos, en aves, reptiles, insectos, plantas, agua y suelo, además de ser capaces de colonizar el aparato genitourinario y la cavidad oral. De las especies de *Enterococcus*, *E. faecalis* es la especie más comúnmente detectada en infecciones bucales, incluidas: periodontitis marginal, infecciones de conductos radiculares y abscesos perirradiculares. Este es un coco grampositivo, fermentativo, facultativamente anaeróbico, que no forma esporas. Sus células son ovoides y de 0,5 a 1µm de diámetro. Se presentan solos, en parejas o en cadenas cortas, y con frecuencia se alargan en la dirección de la cadena. La mayoría de las cepas no son hemolíticas, ni móviles (13). *E. faecalis* podría ser la especie microbiana más resistente a la preparación quimio-mecánica, y su proporción en la flora sobreviviente es más alta que en la flora del conducto radicular inicial (6). En casos que han reportado dolor e infección después de la terapia de conductos, se ha observado que la bacteria más comúnmente es: *E. faecalis* con una proporción de prevalencia que alcanza hasta el 90% (11).

Algunos otros estudios mencionan que *E. faecalis* ha sido recuperada en el 30-77% de los conductos de dientes con lesiones **periapicales** persistentes y que además

esta especie puede estar presente en un pequeño porcentaje de la microbiota en las infecciones endodónticas primarias y es capaz de sobrevivir al tratamiento de conductos, además de ser altamente resistente a la medicación intraconducto con hidróxido de calcio (5,14,15). Suele aislarse en túbulos de la dentina y retrasar o interrumpir el proceso de curación (7). De igual forma, es responsable del mantenimiento de un ambiente alcalino y tiene capacidad de causar infecciones oportunistas, pues es capaz de sobrevivir en condiciones desfavorables, como crecer en un ambiente con poco oxígeno, pH alto, con un amplio rango de temperatura entre 10°C y 60°C durante 30 minutos, con salinidad o en un ambiente pobre en nutrientes (4,12,16).

E. faecalis tiene algunos factores de virulencia definidos, que podrían estar involucrados en la causalidad de la enfermedad, estos incluyen citolisina lítica, enzimas como la gelatinasa y la hialuronidasa (involucrada en el daño tisular), sustancia de agregación (involucrada en unión a leucocitos y matriz extracelular), feromonas (quimioatrayente para neutrófilos), y ácido lipoteicoico (estimula citocinas y ayuda en adhesión a las superficies del huésped); pero la mayor participación de *E. faecalis* apoya la idea de que los enterococos son, microorganismos poco virulentos y su aparición como patógenos puede estar mucho más relacionada con la resistencia a varios agentes antimicrobianos que con una alta virulencia (13).

Candida albicans

El hongo que se encuentra con mayor frecuencia en los conductos radiculares re infectados es *Candida albicans*, este pertenece a la microbiota comensal del tracto gastrointestinal de algunos humanos, pero puede volverse infecciosa en pacientes inmunosuprimidos o que presentan un desequilibrio de su microbioma, además, *C. albicans* no es susceptible a los medicamentos estándar en terapia de conductos como el hidróxido de calcio (17). La capacidad de adhesión a superficies y su afinidad invasiva a la dentina hacen que su capacidad para formar biopelículas y su resistencia a los antifúngicos sea importante, aunada a su facultad de adaptación en condiciones ambientales adversas y a la formación de hifas que

permite a *C. albicans* penetrar profundamente en los túbulos dentinarios, y de esta manera ser potencialmente patógena (18). Este hongo crece en presencia de oxígeno, pero también en baja tensión de este y potenciales redox negativos. Su prevalencia se ha estimado en 6% y 18% (19).

El papel de la actividad antimicrobiana de los selladores en el proceso de desinfección y obturación

El objetivo principal del tratamiento del conducto radicular de los dientes es eliminar la carga microbiana a lo largo de toda la longitud radicular y promover la cicatrización periapical, sin embargo, la eliminación completa de todos los microorganismos es un desafío, ya que las bacterias viables permanecen potencialmente en las paredes de la dentina y dentro de los túbulos dentinarios. Para lograr reducir la carga microbiana tanto como sea posible es necesario utilizar elementos tales como la preparación quimio-mecánica y medicamentos intraconducto. La erradicación bacteriana completa de los espacios del conducto radicular utiliza estrategias terapéuticas que pueden no ser alcanzables debido a la limitación de la instrumentación mecánica y de la efectividad de ciertas sustancias empleadas para la limpieza del conducto radicular, así como los materiales empleados durante la obturación del conducto radicular. Sería ventajoso si estos tuvieran una sustantividad antimicrobiana para eliminar microorganismos residuales que sobreviven al proceso inicial de desinfección del conducto radicular dentro de los túbulos dentinarios o como biopelícula en superficies dentinarias (20).

El proceso de desinfección consta en un primer paso del uso de soluciones de irrigación en la preparación quimio-mecánica durante el tratamiento de conductos, pues mejora la eliminación bacteriana y facilita la eliminación de tejido necrótico y dentina del conducto radicular. Los irrigantes previenen el empaquetamiento del tejido duro y blando infectado en toda la longitud del conducto incluso el área apical. Hipoclorito de sodio es la solución de irrigación más utilizada. Se utiliza en concentraciones que varían del 0,5 % al 5,25%; es una potente solución antimicrobiana, y disuelve eficazmente tanto restos pulpares como componentes orgánicos de la dentina (6,21).

En la secuencia de eventos durante el proceso de endodoncia, es indispensable analizar tanto la calidad como la cantidad de bacterias antes de realizar la obturación del sistema de conductos radiculares para evaluar la eficacia del procedimiento de limpieza y conformación, de esta manera no sólo se autoevaluará la efectividad de la instrumentación mecánica que se ha realizado, sino también la eficacia antimicrobiana de los irrigantes que se utilizaron durante el procedimiento (11).

Selladores

Los selladores endodónticos se utilizan en la obturación de sistemas de conductos radiculares para lograr un sellado hermético o a prueba de fluidos en todo el conducto, incluidos el foramen apical y las irregularidades del conducto, para ayudar a prevenir filtraciones y reducir la posibilidad de que las bacterias residuales del conducto radicular invadan los tejidos y resolver así la lesión periapical (22). Los selladores de conductos radiculares son indispensables para sellar la interfaz entre el núcleo de obturación y la dentina del conducto, así como necesarios para sellar espacios dentro de la complicada anatomía del conducto radicular (23).

Actualmente, se encuentran disponibles varios tipos de selladores endodónticos, de acuerdo a su composición están incluidos los selladores a base de ionómero de vidrio, óxido de zinc–eugenol, resina, a base de hidróxido de calcio, silicona y selladores biocerámicos (22).

Los materiales biocerámicos son cerámicas biocompatibles para usarse en el cuerpo humano, estos se introdujeron en endodoncia en la década de 1990, primero como materiales de obturación retrógrada y luego como cementos de reparación de raíces, selladores de conductos radiculares y recubrimientos para conos de gutapercha (24). Las principales ventajas de los materiales biocerámicos para aplicación dental se relacionan principalmente a sus propiedades fisicoquímicas y biológicas, así como a sus características específicas (24,25). Las cuales se basan en la capacidad de inducir la precipitación de una capa de hidroxiapatita en su superficie que puede formar una unión mineral al tejido dentinario, este mismo término se utiliza para describir su influencia positiva en la plasticidad celular, al

favorecer la diferenciación osteo/odonto/cementogénica de las células madre del ligamento periodontal (PDLSC), que a su vez, puede resultar en un mejor proceso de reparación y resolución de las lesiones periapicales (26).

Los criterios para seleccionar el material ideal para su uso en endodoncia se han vuelto parte integral e incluyen las siguientes características: no tóxico, insoluble en fluidos tisulares, dimensionalmente estable, antibacteriano, conductor de tejido duro, biocompatible, radiopaco y fácil de manejar (24,27), además de no manchar las estructuras dentales, fortalecer al diente, proporcionar un sellado permanente de alta calidad con los tejidos dentales duros pero fácil de reemplazar, y tener la resistencia mecánica que es óptima para el sitio y el objetivo para el que se utilizan (27). La insolubilidad es una de las propiedades físicas más deseables para los selladores de conductos radiculares porque puede tener una gran influencia en el éxito del tratamiento de conductos. De hecho, la disolución puede causar espacios a lo largo de la dentina/ sellador/interfaz de gutapercha que podría ofrecer un camino para las bacterias y sus subproductos en los tejidos periapicales (28).

EndoSequence BC Sealer

EndoSequence BC Sealer (EndoSequence BC Sealer; Brasseler USA, Savannah, GA), es un sellador de conductos radiculares a base de biocerámica que se introdujo recientemente en endodoncia como un sellador alternativo que promete una resistencia biológica superior y características fisicoquímicas ideales como: mayor biocompatibilidad, menor citotoxicidad y genotoxicidad en comparación con otros, a base de resina epoxi (AhPlus), a base de óxido de zinc y eugenol (zical) bioactivo (exhibe un efecto positivo en depósito tisular mediante la formación de hidroxiapatita), radiopaco, fácil de manipular, hidrofílico, se expande después del fraguado, insoluble y posee propiedades antimicrobianas (20,26,29).

Está compuesto principalmente de silicato de calcio, óxido de circonio, óxido de tantalio y fosfato de calcio monobásico, tiene un tiempo de trabajo de más de 30 minutos y un tiempo de fraguado de 4 horas, para que el material se endurezca es necesario estar en presencia de humedad. Se ha reportado que el valor de pH es

tan alto como 12.4, debido tal vez a sus propiedades antimicrobianas durante la reacción de fraguado (24).

BioRoot RCS

BioRoot RCS (Septodont, SaintMaur-des-Fosses, Francia) es un sellador hidráulico a base de silicato de calcio, hidróxido de calcio, silicato dicálcico, silicato tricálcico y óxido de circonio y posee propiedades tanto antimicrobianas como biológicas, su carácter hidráulico y la formación de hidróxido de calcio como parte del proceso de hidratación hace que el sellador sea muy susceptible al medio ambiente (30). El líquido es una solución acuosa de cloruro de calcio (acelerador) con policarboxilato (superplastificante), además, BioRoot RCS ha mostrado la formación de hidróxido de calcio al principio del proceso de fraguado, mientras que otros biocerámicos como los es MTA Fillapex no lo ha hecho, es por esto que BioRoot RCS probablemente promueva la bioactividad y, por lo tanto, la liberación de iones hidroxilo y calcio (31).

AH PLUS Biocerámico

El sellador biocerámico AH Plus se introdujo en el mercado como un sellador a base de cemento de silicato tricálcico premezclado. Según su distribuidor (Dentsply Sirona USA), este nuevo sellador presenta un tiempo de fraguado más rápido (2-4 horas), menor solubilidad (< 3%), menor espesor de película (<50µm) y mayor radiopacidad que equivale a 3mm de aluminio que el EndoSequence BC Sealer (Brasseler). Sin embargo, según el conocimiento de los autores, no se han dilucidado las propiedades biológicas del nuevo sellador biocerámico AH Plus¹ (26)

¹ <https://www.dentsplysirona.com/content/dam/master/product-procedure-brand-categories/endodontics/product-categories/obturation-materials/sealers-root-repair/ah-plus-bioceramic-sealer/ifu/END-IFU-AH-PLUS-BIOCERAMIC-SEALER-TDS-V00-WEB-NAM-EN-2021-05.pdf>

Antecedentes específicos

Propiedades antimicrobianas de los selladores biocerámicos utilizados en los tratamientos endodónticos

Los selladores de conductos radiculares con actividad antimicrobiana pueden ayudar a mejorar el porcentaje de éxito en los tratamientos de conductos y tienen una gran ventaja en situaciones clínicas donde hay infección persistente o recurrente, pues ayudan en la reducción de microorganismos residuales y entrantes, y así mejorar el resultado al realizar el tratamiento de conductos radiculares (23,32).

Colombo *et al.* en 2018 (28) compararon las propiedades biológicas y fisicoquímicas de dos selladores a base de biocerámica (BioRoot™ RCS y TotalFill BC Sealer) un sellador a base de hidróxido de calcio (EasySeal), un sellador a base de MTA (MTA Fillapex) y se probaron dos selladores a base de resina epoxi (AH Plus y Sealapex™) se obtuvieron resultados con EasySeal y MTA Fillapex los cuales mostraron actividad citotóxica severa ($p < 0.05$), AH Plus y Sealapex™ citotoxicidad moderada, BioRoot™ RCS y TotalFill BC Sealer fueron ambos citocompatibles a excepción de TotalFill BC Sealer; con respecto a su actividad antimicrobiana todos los materiales probados mostraron diferentes grados de actividad mediante el uso de la prueba de contacto directo (DCT). En la prueba de agar, el mayor halo de inhibición se observó para EasySeal ($8,10 \pm 0,2$), seguido de AH Plus ($1,2 \pm 0,2$) cuando se probaron con *E. faecalis*. Al integrar las propiedades fisicoquímicas y su actividad antimicrobiana llegaron a la conclusión de que los nuevos selladores a base de biocerámica mostraron propiedades aceptables.

Por su parte Bukhari S. *et al.* en 2019 (20) estudiaron la actividad antimicrobiana del sellador biocerámico (EndoSequence BC sealer) en comparación con AH Plus (Dentsply International Inc, York, PA) en biopelículas de *Enterococcus faecalis* de 8 semanas adheridas a las superficies del conducto radicular al utilizar un modelo de infección de dentina. Los selladores AH Plus y EndoSequence BC Sealer (Brasseler USA, Savannah, GA) se colocaron en la pared

del conducto radicular de las muestras de dentina por 24 horas y 2 semanas en condiciones de humedad a 37°C. Los especímenes fueron etiquetados con tinción de viabilidad fluorescente y microscopía láser confocal se utilizó como una herramienta de evaluación de las proporciones de bacterias muertas y vivas en las paredes del conducto después de la exposición a selladores de conductos radiculares por los tiempos determinados y en sus resultados EndoSequence BC Sealer exhibió una mayor capacidad antimicrobiana contra *E.faecalis* en presencia de dentina hasta por 2 semanas en comparación con AhPlus (20).

Bose R. 2020 *et al.* (23) compararon la eficacia antimicrobiana de los selladores de silicato de calcio (BioRoot RCS y Total Fill BC) y selladores convencionales (AH Plus y Tubli-seal). Se investigó mediante prueba de contacto directo (DCT) y una prueba sobre el biofilm compuesto por cinco cepas endodónticas. La actividad antimicrobiana se determinó utilizando métodos cuantitativos de recuentos viables y análisis de microscopía láser confocal con tinción viva/muerta, el pH de los selladores se analizó durante un período de 28 días en solución salina equilibrada de Hanks (HBSS). En sus resultados todos los selladores endodónticos exhibieron una actividad antimicrobiana significativa contra bacterias planctónicas ($p < 0,05$). BioRoot RCS provocó una reducción significativa en los recuentos viables de las biopelículas en comparación con AH Plus y el control, mientras que no se pudo observar una diferencia significativa en comparación con TotalFill BC y Tubli-seal. El análisis mostró que BioRoot RCS y TotalFill BC exhibieron una inhibición significativa del biofilm en comparación con Tubli-seal, AH Plus y el control. BioRoot RCS presentó la mayor destrucción microbiana, seguido de TotalFill BC y Tubli-seal. Después de 28 días, BioRoot RCS demostró el pH más alto ($pH > 12$). En conclusión, los selladores a base de silicato de calcio exhibieron propiedades antimicrobianas efectivas (23).

En el 2021 Kapralos *et al.* (30) evaluaron las propiedades antimicrobianas, físicas y químicas de AH Plus, BioRoot RCS y Pulp Canal Sealer (PCS) en contacto con clorhexidina antes de la obturación del conducto radicular y las propiedades antimicrobianas se investigaron mediante pruebas de contacto directo para bacterias planctónicas y crecimiento de biopelículas de *E. faecalis*, *S. mutans*, *S.*

epidermidis y *S. aureus in vitro*, también se evaluó el tiempo, la humectabilidad, la microdureza y la rugosidad superficial. Los selladores fueron estudiados sin contacto, 1 minuto (corto plazo) y contacto continuo (largo plazo) con CHX. La caracterización química de los selladores se realizó mediante microscopía electrónica de barrido, análisis de difracción de rayos X y espectroscopia infrarroja transformada de Fourier después de CHX o solución salina utilizada como último irrigante en un modelo de diente *ex vivo* y en bloques de entrenamiento endo. La eficacia de BioRoot RCS contra las biopelículas de *E. faecalis* en los túbulos dentinarios presentó fluctuaciones en el tiempo y otro estudio utilizó un DCT modificado junto con ADT, concluyó en propiedades antimicrobianas moderadas para BioRoot RCS. El resultado con clorhexidina (CHX) mejoró la eficacia antimicrobiana de los selladores endodónticos, pero se necesitan más pruebas para confirmar su idoneidad como irrigante final antes de la obturación del conducto radicular (30).

Planteamiento del problema

La persistencia de los microorganismos dentro del conducto radicular impide en gran medida el éxito de los tratamientos de endodoncia, por lo que la actividad antimicrobiana de los cementos selladores utilizados en los tratamientos de conductos radiculares juega un papel importante en la prevención del fracaso de éstos. La existencia de un gran número de selladores endodónticos con diferente composición y marca hacen que cada día sea más complicado elegir un sellador ideal para lograr un sellado hermético y así evitar una posible reinfección. Existen pocos estudios basados en evidencia de la actividad antimicrobiana de los cementos selladores disponibles en el mercado tanto local como global, lo cual lleva a investigar esta característica en los selladores contra ciertas cepas bacterianas presentes en su mayoría en los fracasos endodónticos. En el caso específico del AH plus biocerámico no existe suficiente literatura al respecto. Por lo que se hace necesario determinar cuál es la actividad antimicrobiana de los selladores de última generación.

Pregunta de investigación

¿Existen diferencias en la actividad antimicrobiana *in vitro* de los selladores biocerámicos de última generación como EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra *E. faecalis* y *C. albicans*?

Justificación

El fracaso de los tratamientos endodónticos depende en gran medida de la persistencia de microorganismos dentro del conducto radicular. El sistema empleado en el tratamiento de los conductos tiene como objetivo reducir de manera significativa la carga bacteriana en el complejo sistema de conductos de los órganos dentarios a través de un sellado en la fase de obturación, empleando sustancias que ayuden a la eliminación de microorganismos resistentes, como *E. faecalis* y otras, las cuales han demostrado permanecer viables aún bajo los efectos de ciertas sustancias o medicamentos en el protocolo de tratamiento, de la misma manera la *C.albicans*, es una levadura que su permanencia lleva a la realización de retratamientos.

El tiempo transcurrido de terminado el tratamiento a la aparición de signos y síntomas que evidencien fracasos está bien descrito en la literatura, donde se plantea que los dientes endodonciados fracasan con más frecuencia en los primeros 24 meses (33). Ali, refiere que el 50.0% de los tratamientos fracasan entre los 90 días y el año de haberlos realizado (34). El alto índice de fracasos en los tratamientos endodónticos siendo este un 10% (35) demuestra que los selladores empleados hasta la fecha no han sido eficaces en la eliminación de los microorganismos resistentes, ya que estas sustancias no logran penetrar en la totalidad de las irregularidades y aberraciones anatómicas de los conductos radiculares, y si bien ya existen en el mercado selladores de última generación, éstos aún no cuentan con suficientes estudios que avalen su actividad antimicrobiana, por lo que los resultados de la presente investigación permitirán conocer sus capacidades y deficiencias antimicrobianas contra dos tipos de cepas, comparados con los selladores de uso más frecuente. Contar con esta información permitirá a los endodoncistas tomar mejores decisiones en la práctica clínica y lograr así el éxito en los tratamientos endodónticos.

Hipótesis de investigación (HI)

La actividad antimicrobiana de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra *E. faecalis* y *C. albicans* es distinta

Hipótesis nula (HO)

La actividad antimicrobiana de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra *E. faecalis* y *C. albicans* **no** es distinta

Objetivo general

Comparar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra *E. faecalis* y *C. albicans*

Objetivos específicos

1. Medir la actividad antimicrobiana de los cementos selladores EndoSequence BC sealer (Brasseler) y BioRoot RCS (Septodont) y AhPlus biocerámico (Dentsply) contra *E. faecalis*, mediante la zona de difusión, para la presencia de bacterias en medios, empleando discos de papel filtro y medidos con vernier digital.
2. Medir la actividad antimicrobiana de los cementos selladores EndoSequence BC sealer (Brasseler) y BioRoot RCS (Septodont) y AhPlus biocerámico (Dentsply) contra *C. albicans*, mediante la zona de difusión, para la presencia de bacterias en medios, empleando discos de papel filtro y medidos con vernier digital.

Material y métodos

Diseño de estudio

Experimental, longitudinal, analítico y prospectivo.

Ubicación espacio temporal

Posgrado de Endodoncia BUAP.

Laboratorio de Investigación en Microbiología Oral de la Facultad de Estomatología de la B.U.A.P.

Universo y muestra

La muestra se basa en estudios similares se utilizarán 2 cepas diferentes: *E. faecalis* (ATCC 51299®) y *C. albicans* (ATCC 10231®). Los discos se repartirán en 5 experimentos por quintuplicado, a 24 y 48 horas y se considerarán en el muestreo sólo los discos que cumplan los criterios de inclusión.

- G1: 5 discos con sellador biocerámico EndoSequence BC Sealer (Brasseler) con cepa de *C. albicans*
- 5 discos con sellador biocerámico EndoSequence BC Sealer (Brasseler) con cepa de *E. faecalis*.
- G2: 5 discos con sellador biocerámico BioRoot (septodont) con cepa de *C. albicans*.
- 5 discos con sellador biocerámico BioRoot (septodont) con cepa de *E. faecalis*.
- G3: 5 discos con sellador biocerámico AhPlus (Dentsply) con cepa de *C. albicans*.
- 5 discos con sellador biocerámico AhPlus (Dentsply) con cepa de *E. faecalis*.
- G testigo positivo: Discos con papel filtro con hidróxido de calcio

Criterios de inclusión:

- Discos con medidas adecuadas
- Discos que se impregnan adecuadamente con el material

Criterio de exclusión

- Discos que estén rotos
- Discos que estén contaminados
- Discos que estén despegados

Criterios de eliminación

- Incapacidad de medir las variables del estudio.

Definición de las variables

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA Y CATEGORIAS
Efecto antimicrobiano	Reducción de la presencia de microorganismos, (bacterias y hongos) ante el contacto con una sustancia	Diámetro del halo de inhibición en sensidiscos con vernier.	Numérica continua mm (milímetros)
VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA Y CATEGORIAS
Cemento sellador	Material dental que contribuye a rellenar en forma permanente, tridimensional y estable toda comunicación con la cavidad oral y el periodonto apical.	Sensidiscos con cemento sellador - AhPlus biocerámico. - EndoSequence BC sealer - BioRoot RCS.	1. Cualitativo Nominal policotómico

Técnicas y procedimientos

Se realizó el conteo de las 2 diferentes bacterias y se comprobó que bacteria permanece en el conducto radicular en mayor proporción y con que marca de biocerámico.

Previa estandarización intra e interobservador. Se realizó el procedimiento y observación de la acción antimicrobiana de los selladores endodónticos sobre las 2 cepas diferentes: *E. faecalis* (ATCC 51299®) y *C. albicans* (ATCC 10231®) se llevó a cabo en Laboratorio de Investigación en Microbiología de la BUAP y laboratorio de Biomateriales.

Se tomaron medidas de asepsia, antisepsia y bioseguridad de las cepas bacterianas *E. faecalis* (ATCC 51299®) y *C. albicans* (ATCC 10231®), de acuerdo a las instrucciones del manual de laboratorio microbiológico.

Se procedió a embeber el triángulo de vidrio con el material hidratado y se sembró en el agar.

Se sembró el *E. faecalis* y *C. albicans* en agar sangre el mismo que es un medio de cultivo no selectivo que permite el crecimiento de microorganismos Gram+; también se sembró en agar de Macconkey, medio de cultivo especializado que permite el crecimiento de microorganismos Gram -, e inhibe el crecimiento de Gram +.

La siembra se realizó con asas bacteriológicas estériles comenzando desde el extremo superior de la placa Petri y se diseminó por toda la superficie del agar en “zig –zag”, se marca el rayado.

Se rotuló la placa y se colocó en la estufa a 37°C en posición invertida por 24 horas para que las 2 cepas diferentes lleven a cabo su metabolismo, desarrollo y reproducción.

Preparación de los medios

Se procedió a preparar agar Müller- Hinton siguiendo las instrucciones del fabricante para colocar el *E. faecalis*

Se disolvió 34.0 gr de agar en 1 litro de agua destilada. Se calentó el agua y se agitó hasta disolverla por completo, luego pasó por un proceso de esterilizado, a una temperatura de 121°C por 15-20 minutos a 1 atm de presión, luego se dejó enfriar

hasta que alcanzó una temperatura de 45°C para después ser colocado en las placas Petri.

Se realizó el mismo procedimiento con Agar papa dextrosa para la colocación de *C. albicans*.

Preparación del inóculo

Transcurridas las 24 horas se comprobó que los microorganismos formaron colonias microbianas en el agar.

Se procedió a realizar la preparación del inóculo por el método de suspensión directa de colonias, el cual consiste en tomar varias colonias con un asa y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de MacFarland, 0.5 en suero fisiológico.

Luego de agitar en un agitador "vortex" durante 15-20 segundos, se comprobó la turbidez según la escala de MacFarland con ayuda del Turbidímetro (Phoenix Spec BD) la misma que debe ser de 0.5

Inoculación de placas

Una vez realizados los procedimientos anteriormente descritos, se realizó la inoculación de las placas antes de que transcurran 15 minutos de haber ajustado el inóculo, se introdujo una pipeta Pasteur dentro de la suspensión y al retirarlo se rotó varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo.

En el agar de Mueller-Hinton, medio de cultivo no selectivo, a partir del inóculo se sembró en todo el agar, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consiguió deslizando el triángulo de vidrio por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme.

Se dejó secar por 15 minutos antes de depositar los discos de sensibilidad y los discos que contenían los 3 selladores diferentes.

Los discos con los selladores fueron elaborados en papel filtro debido que este papel resiste a los procedimientos de esterilización. La medida de los discos fue de 6 mm de diámetro, similares a la que poseen los discos de sensibilidad.

Para que los discos que contienen el sellador tuvieran un contacto directo con el agar se les embebió con los selladores por ambas caras, se les colocaron en el medio de cultivo y luego se incubaron en la estufa a una temperatura de 37°C por 24 y 48 horas con el objetivo de determinar si existe o no la formación de los halos de inhibición.

La preparación de los selladores EndoSequence BC sealer BioRoot RCS y AhPlus biocerámico se realizó con base en las recomendaciones del fabricante.

Colocación de los discos e interpretación de los resultados

Los discos no se situaron a menos de 15 mm del borde de la placa, y fue necesario que estuvieran distribuidos de forma que no se produjera una superposición de los halos de inhibición.

El papel filtro estéril e impregnado con los selladores, se colocó manualmente con pinzas estériles, asegurándose que contactaran perfectamente con la superficie del agar, presionando ligeramente sobre el medio de cultivo.

Cementos

Cementos selladores se manipularon de acuerdo con las instrucciones del fabricante:

- EndoSequence BC Sealer – (Brasseler)
- BioRoot RC Sealer – (Septodont)
- AhPlus biocerámico –(Dentsply)

AhPlus Biocerámico

El sellador biocerámico AhPlus viene en una jeringa premezclada lista para usarse. Se colocó la mezcla en una loseta y con ayuda de unas pinzas de curación se embebió el disco de papel filtro.

BioRoot RCS

Para el sellador BioRoot RCS se utilizó la cuchara más grande y el gotero que contiene el producto, sobre una loseta de vidrio. Las proporciones fueron 1:5, posteriormente se procedió a mezclar con una espátula de metal incorporando el polvo al líquido hasta conseguir una mezcla uniforme de consistencia cremosa.

EndoSequence BCS

El sellador biocerámico EndoSequence BC Sealer viene en una jeringa premezclada lista para usarse. Se colocó la mezcla en una loseta y con ayuda de unas pinzas de curación se embebió el disco de papel filtro.

Recursos

Recursos humanos

Estudiante de la maestría en Estomatología con terminal en endodoncia

Director del proyecto: D.C Brenda Eréndida Castillo Silva

Asesor disciplinario: C.D.E.C Emilio Enrique García Manzanero

Asesor metodológico: D.C. Cristián Dionisio Román Méndez

Asesor externo: D.C Nuria Patiño Marín

Recursos materiales

- Cámara anaerobiosis
- Recipientes de plástico
- Lapicero

- Vernier electrónico
- Cámara fotográfica Nikon D 3200
- Sensidiscos
- Cepa bacteriana *E. faecalis* (ATCC 51299®)
- Cepa bacteriana *C. albicans* (ATCC 10231®)
- Sellador endodóntico EndoSequence BC Sealer (Brasseler)
- Sellador endodóntico BioRoot RCS (Septodont)
- Sellador endodóntico AhPlus Biocerámico (Dentsply)
- Discos de papel filtro (6mm)
- Pinzas de curación
- Gasas
- Loleta de vidrio
- Campos clínicos desechables
- Unidad incubadora
- Computadora portátil MacBook Air

Recursos financieros

Todos los recursos financieros fueron subsidiados por la estudiante con el convenio CONACYT N.º 788049.

Análisis de los datos

Los datos fueron procesados en Microsoft Excel 365, para posteriormente ser vaciados en los paquetes estadísticos SPSS versión 25 y Statgraphics centurión.

Se utilizó de inicio estadística descriptiva numérica con medida de tendencia central, de dispersión y de forma. Posteriormente se hizo la prueba de normalidad de Shapiro wilk, para así poder seleccionar las pruebas estadísticas.

Se utilizó para comparar las medias, de inicio la prueba ANOVA para medidas repetidas y posteriormente para comparar los grupos se utilizará la prueba ANOVA de un factor, así mismo se utilizó la prueba post hoc Tukey para determinar las diferencias dentro de los grupos.

Ética y bioseguridad.

El manejo de las bacterias fue bajo criterios de bioseguridad del manual de bioseguridad del laboratorio de Investigación en Microbiología Oral de la Facultad de Estomatología de la B.U.A.P.

Al terminar el estudio las bacterias fueron desechadas en una bolsa roja de polietileno que posteriormente se esterilizó y se incineró como lo marca la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Resultados

Efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra *E. faecalis* a 24 y 48 horas

Para determinar el efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos de última generación, se midió el tamaño del halo antimicrobiano, el cual se refiere al diámetro de la zona de inhibición o muerte de microorganismos que se observa alrededor de un material en pruebas de laboratorio. Esta prueba se realizó para evaluar la actividad antimicrobiana de AhPlus biocerámico, BioRoot RCS y EndoSequence BC sealer. El diámetro del halo antimicrobiano se midió en milímetros y representó la distancia desde el borde del material hasta el punto donde ya no se observa crecimiento bacteriano. Un halo antimicrobiano más grande indica una mayor capacidad del material para inhibir el crecimiento de los microorganismos. Como se observa en la **Tabla 1** y **2** los selladores mostraron un efecto contra *E. faecalis* para AhPlus biocerámico (8 mm y 7.6 mm), BioRoot RCS (11.1mm y 10.99 mm) y EndoSequence BC sealer (7.9 mm y 7.44 mm) a las 24 y 48 horas respectivamente. En las **Figura 1** y **2** se observa como BioRoot RCS es el sellador con mayor efecto a las 24 y 48 horas.

Tabla 1. Estadística descriptiva E. faecalis 24 horas

	Promedio (mm)	Desv. Est.	Coef. Var
AhPlus Biocerámico	8.09	0.82	10.13%
BioRoot RCS	11.14	0.91	8.20%
EndoSequence BCS	7.90	0.71	9.01%

Tabla 2. Estadística descriptiva *E. faecalis* 48 horas

	Promedio (mm)	Desv. Est.	Coef. Var
AhPlus	7.67	0.88	11.42%
Bioroot RCS	10.99	1.04	9.49%
EndoSequence BCS	7.44	0.88	11.86%

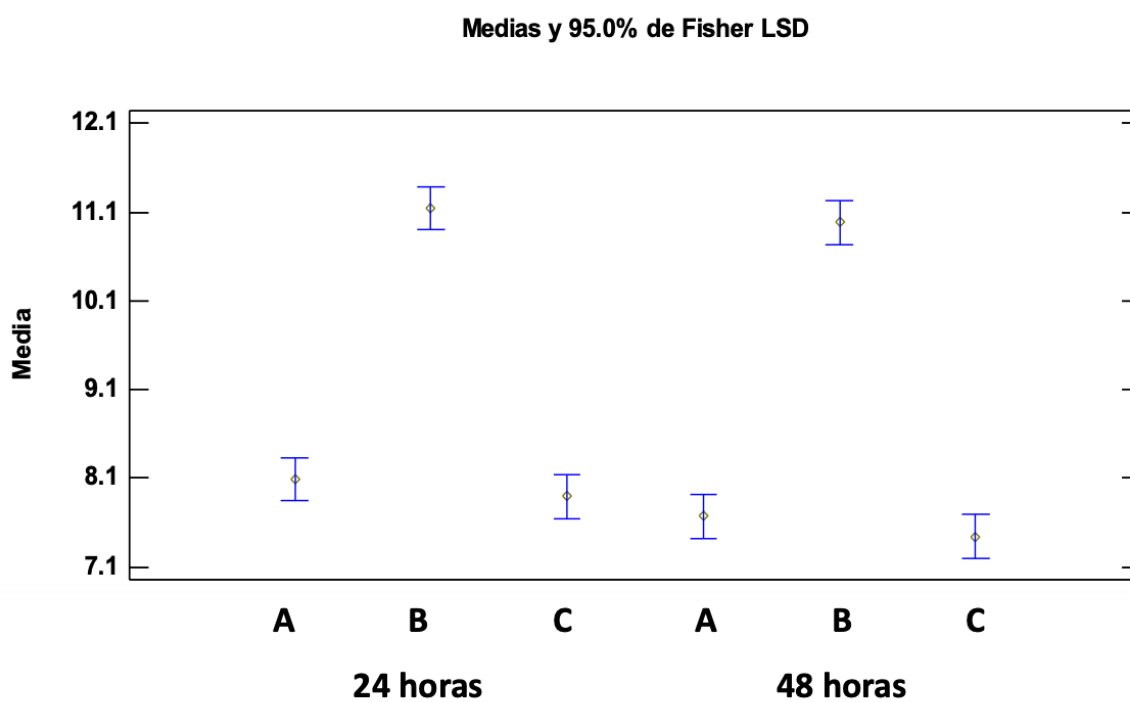


Figura 1. Efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos contra *E. faecalis* a 24 y 48 horas. A AhPlus biocerámico, B BioRoot RCS y C EndoSequence BC sealer.



Figura 2 Imágenes representativas del experimento contra *E. faecalis*. A AhPlus biocerámico, B BioRoot RCS y C EndoSequence BC sealer.

BioRoot RCS muestra una mayor actividad antimicrobiana contra *E. faecalis* a las 24 y 48 horas.

Al realizar la comparación de los tres selladores biocerámicos con la prueba estadística de ANOVA con la corrección de post hoc Tukey, se obtiene una diferencia significativa para BioRoot RCS en comparación con los otros dos selladores tanto a 24 como a 48 horas (**Tabla 3 y 4**). AhPlus biocerámico y EndoSequence BC sealer no mostraron diferencias.

Tabla 3. Analisis comparativo, prueba post hoc Tukey 24 hs.

Post hoc "Tukey"	Sig.	Diferencia
HP BIO - BIO ROOT	*	-3.0536
HP BIO - ENDOSEQUENCE		0.1948
BIO ROOT - ENDOSEQUENCE	*	3.2484

* indica una diferencia significativa.

Tabla 4. Analisis comparativo, prueba post hoc Tukey 48 hs.

Post hoc Tukey	Sig.	Diferencia
HP BIO - BIO ROOT	*	-3.316
HP BIO - ENDOSEQUENCE		0.2264
BIO ROOT - ENDOSEQUENCE	*	3.5424

* indica una diferencia significativa.

Efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus biocerámico contra *C. albicans* a 24 y 48 horas

Como se observa en la **Tabla 5** y **6** los selladores mostraron un efecto contra *C. albicans* para AhPlus biocerámico (6.24 y 6), BioRoot RCS (6.18 y 6) y EndoSequence BC sealer (6.1 y 6) a las 24 y 48 horas respectivamente. En la **Figura 3** y **4** se observa como a las 24 horas los tres selladores muestran un efecto modesto que se pierde a las 48 horas. Siendo AhPlus biocerámico el sellador con mayor efecto.

Tabla 5. Estadística descriptiva *C. albicans* a 24 horas

	Promedio (mm)	Desv. Est.	Coef. Var
AhPlus	6.24	0.25	3.96%
BioRoot RCS	6.18	0.23	3.64%
EndoSequence BCS	6.10	0.10	1.61%

Tabla 6 Estadística descriptiva *C. albicans* a 48 horas

	Promedio (mm)	Desv. Est.	Coef. Var
AhPlus	6.057	0.060	0.98%
BioRoot RCS	6.044	0.048	0.79%
EndoSequence BCS	6.039	0.048	0.79%

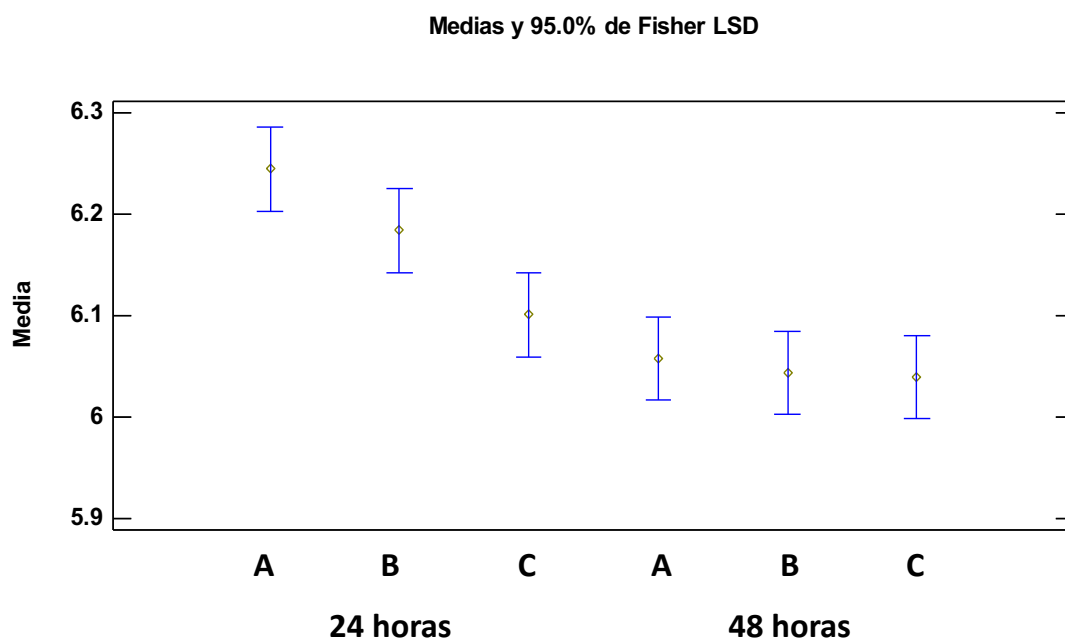


Figura 3. Efecto antimicrobiano de los selladores biocerámicos contra *C. albicans* a 24 y 48 horas. A AhPlus biocerámico, B BioRoot RCS y C EndoSequence BC sealer.



Figura 4 Imágenes representativas del experimento contra *C. albicans*.

A AhPlus biocerámico, B BioRoot RCS y C EndoSequence BC sealer.

Los selladores biocerámicos de última generación: EndoSequence BC sealer, BioRoot RCS y AhPlus muestran una actividad antimicrobiana contra *E. faecalis* pero un efecto limitado contra *C. albicans*

Cuando se compara la actividad antimicrobiana de los selladores en bacterias *versus* hongos, se pueden observar diferencias en su eficacia contra estos dos tipos de microorganismos: en bacterias como *E. faecalis* y en una infección fúngica (*C. albicans*). Por lo tanto, al comparar la actividad antimicrobiana de los tres selladores biocerámicos contra *E. faecalis* *versus* *C. albicans* a las 24 horas y 48 horas se observa que los selladores biocerámicos pueden mostrar una buena actividad antimicrobiana, al inhibir su crecimiento y de esta manera contribuir a su eliminación. Por otro lado, en general los selladores biocerámicos muestran un efecto modesto contra *C. albicans*.

Discusión

Los biocerámicos en endodoncia son materiales que se utilizan en el tratamiento de conductos radiculares, específicamente en el sellado de los conductos después de la limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares. Los biocerámicos son materiales inorgánicos que están compuestos principalmente por óxidos metálicos y/o silicatos, y tienen propiedades beneficiosas en endodoncia debido a su biocompatibilidad y capacidad de sellado. Algunas características y ventajas de los biocerámicos en endodoncia incluyen: biocompatibilidad, propiedades antimicrobianas, adhesión, etc.

La alta tasa de fracaso en los tratamientos endodónticos evidencia la falta de eficacia de los selladores utilizados en la eliminación de microorganismos. En este contexto, los resultados de la presente investigación son importantes para comprender las capacidades y deficiencias antimicrobianas de estos nuevos selladores: AhPlus biocerámico, BioRoot RCS y EndoSequence BC sealer contra *E. Faecalis* y contra *C. albicans*. Esto es crucial para mejorar los resultados de los tratamientos endodónticos, abordando de manera más efectiva la eliminación de microorganismos resistentes y superando las dificultades asociadas con las características anatómicas complejas de los conductos radiculares. Por lo tanto, es fundamental evaluar y comparar los resultados de diferentes selladores en estudios específicos que aborden la actividad antimicrobiana contra bacterias y hongos para obtener conclusiones más precisas y específicas en cada caso.

En este proyecto, se utilizaron tanto los selladores premezclados como para mezclar, los cuales son utilizados en endodoncia. La ventaja principal de los selladores premezclados (AhPlus y EndoSequence BC sealer) es su conveniencia y facilidad de uso. Al no requerir preparación adicional, se eliminan los pasos de mezcla y la posibilidad de errores en la proporción de los componentes. En el caso

de los selladores que se mezclan (BioRoot RCS) permiten ajustar la consistencia y propiedades del sellador según las necesidades específicas de cada caso. Al poder controlar la proporción de los componentes y la viscosidad del sellador, se puede adaptar a diferentes situaciones clínicas, como conductos estrechos o áreas de difícil acceso (36).

Si bien el sellador AhPlus ha sido reconocido ampliamente por su actividad antimicrobiana, en su nueva versión biocerámica no existen estudios al respecto (37). En nuestro trabajo, observamos que comparado con el sellador EndoSequence BC sealer que también es premezclado no muestra diferencias significativas. Sin embargo, cabe resaltar que el sellador BioRoot RCS es el que mostró una mayor actividad antimicrobiana contra *E. faecalis*. Esto coincide con los resultados previamente publicados por Alsubait S, *et al.* (38) que señalan que BioRoot tiene un mayor efecto.

Por otro lado, en el caso de los hongos, como *Candida albicans* los selladores biocerámicos pueden tener una actividad limitada. Algunos selladores pueden no ser tan efectivos en la eliminación de hongos, lo que puede deberse a diferencias en la composición de las células fúngicas. En nuestros datos, el sellador AhPlus biocerámico fue el que mostró el mayor efecto. Sin embargo, a la fecha, no hay estudios para comparar estos datos en las mismas condiciones. Podemos mencionar que en la literatura se ha demostrado que EndoSequence BC sealer es el sellador con mayor potencial antimicrobiano contra *Candida albicans* (29).

Es importante tener en cuenta que la actividad antimicrobiana de los nuevos selladores que entraron al mercado generó grandes expectativas. Sin embargo, en nuestros estudios, los selladores biocerámicos de última generación, muestran que BioRoot RCS presenta mayor actividad antimicrobiana contra *E. faecalis* y mantuvo su eficacia durante un período más prolongado. Sin embargo, su efecto contra *C. albicans* fue limitado. En general, se observó que los selladores biocerámicos evaluados tenían una actividad limitada contra *C. albicans*, y se encontró que

AhPlus mostró la mayor actividad significativa en comparación con EndoSequence BC sealer.

La investigación y el desarrollo de biocerámicos en endodoncia continúan avanzando, y se están introduciendo constantemente nuevos materiales y técnicas. Por lo tanto, es recomendable estar actualizado con las últimas investigaciones y recomendaciones de expertos en el campo.

Perspectiva

Los resultados del presente estudio dan la pauta de la necesidad que existe para continuar realizando un protocolo de desinfección adecuada a través de irrigantes y medicación intraconducto debido a que ninguno de los selladores probados fue efectivo contra *C.albicans*, también refleja la necesidad de continuar estudios referentes a la modificación de los componentes estructurales de los selladores, que no alteren sus propiedades de manera negativa, y se realicen las pruebas de caracterización, microbiológicas, y de citotoxicidad correspondientes.

Conclusión

- De los selladores biocerámicos de última generación BioRoot RCS es el que muestra una mayor actividad antimicrobiana contra *E. faecalis* además que mantiene por mayor tiempo su eficacia, por otro lado, tiene un efecto limitado contra *C. albicans*.
- El efecto de los selladores biocerámicos probados tienen una actividad limitada contra *C. albicans*, siendo el AhPlus el que muestra una mayor actividad significativa cuando se compara con EndoSequence BC sealer.

Bibliografia

1. Antunes HS, Rôças IN, Alves FRF, Siqueira JFJ. Total and Specific Bacterial Levels in the Apical Root Canal System of Teeth with Post-treatment Apical Periodontitis. *J Endod*. 2015 Jul;41(7):1037–42.
2. Fouad AF. Systemic Antibiotics in Endodontic Infections. In: *Endodontic Microbiology*. 2017. p. 269–85.
3. Huang GTJ, Ricucci D, Lin LM. Endodontic Infections in Incompletely Developed Teeth. In: *Endodontic Microbiology*. 2017. p. 311–39.
4. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*. 2020 Mar;12(3):e7257.
5. Siqueira JFJ, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J*. 2022 May;55 Suppl 3:512–30.
6. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Top*. 2005 Mar;10(1):77–102.
7. Ferrari PHP, Cai S, Bombana AC. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. *Int Endod J*. 2005 Jun;38(6):372–80.
8. Pattanshetty S, Kotrashetti VS, Bhat K, Nayak RS, Somannavar P, Pujar M. Multiplex polymerase chain reaction detection of selected bacterial species from symptomatic and asymptomatic non-vital teeth with primary endodontic infections. *J Investig Clin Dent*. 2018 May;9(2):e12312.
9. Cao H, Qi Z, Jiang H, Zhao J, Liu Z, Tang Z. Detection of *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in primary endodontic infections in a Chinese population. *Int Endod J*. 2012 Aug;45(8):773–81.
10. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daoood U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics-Current Status and Future Directions. *Int J Mol Sci*. 2017 Aug;18(8).
11. Jhajharia K. Microbiology of endodontic diseases: A review article. ~ 227 ~ *Int J Appl Dent Sci*. 2019;5(1):227–30.
12. Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*. 1997 Mar;30(2):91–5.
13. Rôças IN, Siqueira JFJ, Santos KRN. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*. 2004 May;30(5):315–20.
14. Sedgley C, Nagel A, Dahlén G, Reit C, Molander A. Real-time Quantitative

- Polymerase Chain Reaction and Culture Analyses of *Enterococcus faecalis* in Root Canals. J Endod [Internet]. 2006 Mar 1;32(3):173–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.10.037>
15. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. Oral Microbiol Immunol [Internet]. 2003 Apr 1;18(2):100–3. Available from: <https://doi.org/10.1034/j.1399-302X.2003.00058.x>
 16. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. Cell Mol Life Sci. 2003 Dec;60(12):2622–36.
 17. Kerlikowski A, Matthes R, Pink C, Steffen H, Schlüter R, Holtfreter B, et al. Effects of cold atmospheric pressure plasma and disinfecting agents on *Candida albicans* in root canals of extracted human teeth. J Biophotonics. 2020 Dec;13(12):e202000221.
 18. Zancan RF, Calefi PHS, Borges MMB, Lopes MRM, de Andrade FB, Vivan RR, et al. Antimicrobial activity of intracanal medications against both *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* biofilm. Microsc Res Tech. 2019 May;82(5):494–500.
 19. Ning Y, Hu X, Ling J, Du Y, Liu J, Liu H, et al. *Candida albicans* survival and biofilm formation under starvation conditions. Int Endod J. 2013 Jan;46(1):62–70.
 20. Bukhari S, Karabucak B. The Antimicrobial Effect of Bioceramic Sealer on an 8-week Matured *Enterococcus faecalis* Biofilm Attached to Root Canal Dentinal Surface. J Endod. 2019 Aug;45(8):1047–52.
 21. Haapasalo M, Udnæs T, Endal U. Persistent, recurrent, and acquired infection of the root canal system post-treatment. Endod Top. 2003 Nov;6(1):29–56.
 22. Shen Y, Peng B, Yang Y, Ma J, Haapasalo M. What do different tests tell about the mechanical and biological properties of bioceramic materials? Endod Top. 2015 May;32(1):47–85.
 23. Bose R, Ioannidis K, Foschi F, Bakhsh A, Kelly RD, Deb S, et al. Antimicrobial Effectiveness of Calcium Silicate Sealers against a Nutrient-Stressed Multispecies Biofilm. Vol. 9, Journal of Clinical Medicine . 2020.
 24. Raghavendra SS, Jadhav GR, Gathani KM, Kotadia P. Bioceramics in endodontics - a review. J Istanbul Univ Fac Dent. 2017;51(3 Suppl 1):S128–37.
 25. Candeiro GTM, Moura-Netto C, D’Almeida-Couto RS, Azambuja-Júnior N, Marques MM, Cai S, et al. Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial effectiveness of a bioceramic endodontic sealer. Int Endod J. 2016 Sep;49(9):858–64.

26. Sanz JL, López-García S, Rodríguez-Lozano FJ, Melo M, Lozano A, Llena C, et al. Cytocompatibility and bioactive potential of AH Plus Bioceramic Sealer: An in vitro study. *Int Endod J*. 2022 Jul;
27. Haapasalo M, Parhar M, Huang X, Wei X, Lin J, Shen Y. Clinical use of bioceramic materials. *Endod Top*. 2015 May;32(1):97–117.
28. Colombo M, Poggio C, Dagna A, Meravini M-V, Riva P, Trovati F, et al. Biological and physico-chemical properties of new root canal sealers. *J Clin Exp Dent*. 2018 Feb;10(2):e120–6.
29. Singh G, Elshamy FM, Homeida HE, Boreak N, Gupta I. An in vitro Comparison of Antimicrobial Activity of Three Endodontic Sealers with Different Composition. *J Contemp Dent Pract*. 2016;17(7):553–6.
30. Kapralos V, Rukke HV, Ørstavik D, Koutroulis A, Camilleri J, Sunde PT. Antimicrobial and physicochemical characterization of endodontic sealers after exposure to chlorhexidine digluconate. *Dent Mater*. 2021 Feb;37(2):249–63.
31. Prüllage R-K, Urban K, Schäfer E, Dammaschke T. Material properties of a tricalcium silicate-containing, a mineral trioxide aggregate-containing, and an epoxy resin-based root canal sealer. *J Endod*. 2016;42(12):1784–8.
32. AlShwaimi E, Bogari D, Ajaj R, Al-Shahrani S, Almas K, Majeed A. In Vitro Antimicrobial Effectiveness of Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis*: A Systematic Review. *J Endod*. 2016 Nov;42(11):1588–97.
33. Méndez BRR, Sánchez KBM, Mendoza JMG, de Santos Alba J. Comparación de la eficacia entre los diferentes métodos de limpieza para limas endodónticas. *Rev la Asoc Dent Mex*. 2015;72(3):134–8.
34. Hussein AA, Ali A, Roig M. Manual de endodoncia. Parte 15. Dolor postoperatorio en endodoncia. *Rev Oper Dent Endod* 2008; 5:78. 2008;1–16.
35. Gotman JL. Éxito y Fracaso causas y evolución. Pitt Ford TR *Endod en la Práctica Clínica Harty* 4ta ed México MacGraw-Hill Interam. 1999;
36. Benezra MK, Wismayer PS, Camilleri J. Interfacial characteristics and cytocompatibility of hydraulic sealer cements. *J Endod*. 2018;44(6):1007–17.
37. Lim M, Jung C, Shin D-H, Cho Y, Song M. Calcium silicate-based root canal sealers: A literature review. *Restor Dent Endod*. 2020;45(3).
38. Alsubait S, Albader S, Alajlan N, Alkhunaini N, Niazy A, Almahdy A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate-and epoxy resin-based endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms: a confocal laser-scanning microscopy analysis. *Odontology*. 2019;107:513–20.