



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA  
MAESTRÍA EN ENDODONCIA

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS  
CEMENTOS SELLADORES AH PLUS BIOCERÁMICO® Y CERASEAL®  
EN UN BIOFILM DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*”**

AUTORA  
**C.D. LLILENIS MENDOZA ARROCHA**

Tesis presentada para optar por el título de Maestra en Endodoncia

---

Julio 2023, San Luis Potosí, México. Todos los derechos reservados

DIRECTOR DE TESIS.....PhD. Ricardo Oliva Rodríguez

ASESORA..... MSc. Ana María González Amaro

ASESORA.....PhD. Norma Verónica Zavala Alonso

**MENDOZA-ARROCHA LL**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA  
MAESTRÍA EN ENDODONCIA

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS  
CEMENTOS SELLADORES AH PLUS BIOCERÁMICO® Y CERASEAL®  
EN UN BIOFILM DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*”**

**C.D. LLILENIS MENDOZA ARROCHA**

Tesis presentada para optar por el título de Maestra en Endodoncia  
Julio 2023, San Luis Potosí, México. Todos los derechos reservados

DIRECTOR DE TESIS.....**PhD. Ricardo Oliva Rodríguez**  
Profesor – Investigador  
Maestría en Endodoncia, UASLP  
San Luis Potosí, SLP, México

ASESORA.....**MSc. Ana María González Amaro**  
Profesor – Investigador  
Maestría en Endodoncia, UASLP  
San Luis Potosí, SLP, México

ASESORA.....**PhD. Norma Verónica Zavala Alonso**  
Profesor – Investigador  
Maestría en Endodoncia, UASLP  
San Luis Potosí, SLP, México



**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS  
CEMENTOS SELLADORES AH PLUS BIOCERÁMICO® Y CERASEAL®  
EN UN BIOFILM DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*”**

Trabajo de grado aprobado para su presentación en el nombre de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Estomatología, Maestría en Endodoncia, por la siguiente dirección y asesorías:

---

PhD. Ricardo Oliva Rodríguez

**DIRECTOR DE TESIS**

---

MSc. Ana María González Amaro

**ASESORA**

---

PhD. Norma Verónica Zavala Alonso

**ASESORA**

San Luis Potosí, Julio 2023



**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS  
CEMENTOS SELLADORES AH PLUS BIOCERÁMICO® Y CERASEAL®  
EN UN BIOFILM DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*”**

Trabajo de grado aprobado para su presentación en el nombre de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Estomatología, Maestría en Endodoncia, por el siguiente jurado:

---

MSc. María Verónica Méndez González

**PRESIDENTA**

---

MSc. Odeth Aglaé García Aguilar

**SECRETARIA**

---

PhD. Ricardo Oliva Rodríguez

**VOCAL**

San Luis Potosí, Julio 2023



**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS  
CEMENTOS SELLADORES AH PLUS BIOCERÁMICO® Y CERASEAL®  
EN UN BIOFILM DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*”**

---

C.M.F. Ricardo Martínez Rider

**Director de la Facultad de Estomatología, UASLP**

---

PhD. Yolanda Hernández Molinar

**Jefa de la División de Posgrados de la Facultad de Estomatología**

---

MSc. María Verónica Méndez González

**Coordinadora de la Maestría en Endodoncia**

San Luis Potosí, Julio 2023

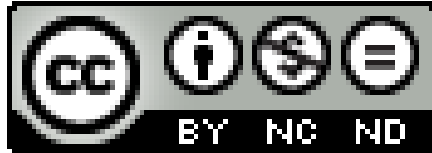
## Agradecimientos

Primeramente, quiero agradecer a Dios por darme la salud y la fortaleza para culminar esta maestría, también quiero agradecer a mis padres, a mis hermanos y hermanas. Especialmente a mi mamá Hermelinda Arrocha Domínguez, mi angelito que me cuida desde el cielo que siempre confió en mí. Mi hermano Alejandrino Mendoza Arrocha que sin él no hubiese podido hacer esto realidad, a Juan de Dios Mendoza Arrocha que es una persona que vale oro y que para él siempre más que su hermana menor me ha querido como su niña pequeña. Gracias por tenerme siempre en sus oraciones y nunca decirme que no a todo aquello que necesité.

Daniel Alejandro Manzo Martínez, gracias amor mío por apoyarme en los momentos difíciles e impulsarme a seguir, gracias porque a pesar de no saber nada de endodoncia, conmigo te graduaste de tanto que me escuchaste.

Gracias a mis amigos que siempre me animaban a seguir adelante, a pesar que muchas veces sentía que no podía con tanto, hoy miro hacia atrás y me doy cuenta que de verdad ustedes veían lo grande que soy. Isis y Lineth, mis power girls, me escucharon llorar y reír, a pesar de que estuve a punto de tirar la toalla siempre estuvieron ahí para darme ánimos y seguir adelante. Para “los vive el momento”, me desahugué y me alegré con sus locuras, sobre todo en esos días difíciles. Justin, eres mi hermanito, siempre creíste en mi y estuviste dispuesto a brindarme siempre tu apoyo. Mariana (Mami riqui), sabes que desde que te conocí en el primer propedéutico te convertiste en mi cómplice, llegamos a conocernos mejor y a descubrir tantas cosas. Aída María, gracias por aguantarme y compartir conmigo momentos buenos y malos, aprendí de tu delicadeza y disfruté tantas veces de tu sazón. Keni, gracias por tu amistad y hospitalidad, me hiciste sentir cercana y querida en esta ciudad desconocida para mí. Zairis, juntas atravesamos estos últimos momentos, dándonos ánimos mutuamente y compartiendo sentimientos, estuviste ahí aún cuando quería jubilarme antes de tiempo. Karim, gracias por abrirme las puertas de tu hogar a pesar de ser una desconocida, tienes en mi corazón un gran espacio. Ale, Almita y Jesi gracias por contagiarme de su positivismo y preocuparse por mis conductos.

A mis profesores, les agradezco el empeño que pusieron en mí, a pesar de los altibajos que se presentaron en este trayecto siempre me brindaron su consejo y me encaminaron hasta este punto. Especialmente a mi maestra Anita, gracias a su tenacidad y apoyo constante pude culminar este trabajo. Dr. Oliva, su empatía y su experiencia me fueron muy útiles para continuar con mi formación profesional. Selene, gracias por brindarme de tu valioso tiempo para aconsejarme dentro y fuera del laboratorio, orgullosamente puedo decir que sé un poco más de estadística gracias a ti. Doctores Claudia y Fer, gracias por tratarme no solo como una alumna sino como un miembro más de su familia. Con mucho cariño al Dr. Aldo, gracias por ser el ejemplo que me motivó a buscar mi crecimiento profesional, en todo momento estuviste pendiente de mí a pesar de la distancia.



“Evaluación de la capacidad antimicrobiana de los cementos selladores ah plus biocerámico® y ceraseal® en un biofilm de enterococcus faecalis” by LLILENIS MENDOZA ARROCHA is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

**“PROYECTO APOYADO POR EL PROGRAMA NACIONAL  
DE BECAS CONAHCYT CON CLAVE: 2021-000018-02NACF  
/ CVU: 1142807”**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUCCIÓN .....                                                | 1  |
| 1 MARCO TEÓRICO .....                                             | 3  |
| 1.1 Infección radicular .....                                     | 3  |
| 1.2 Métodos para la identificación microbiana en endodoncia ..... | 5  |
| 1.3 Cementos selladores endodónticos .....                        | 8  |
| 1.3.1 Cementos Biocerámicos .....                                 | 9  |
| 1.3.2 AH Plus Biocerámico® .....                                  | 13 |
| 2 JUSTIFICACIÓN .....                                             | 15 |
| 2.1 Preguntas de investigación .....                              | 15 |
| 3 OBJETIVOS .....                                                 | 16 |
| 3.1 General .....                                                 | 16 |
| 3.2 Específicos .....                                             | 16 |
| 4 HIPÓTESIS .....                                                 | 17 |
| 5 METODOLOGÍA .....                                               | 18 |
| 5.1 Lugar de realización .....                                    | 18 |
| 5.2 Diseño de estudio .....                                       | 18 |
| 5.3 Criterios de selección .....                                  | 18 |
| 5.3.1 Inclusión .....                                             | 18 |
| 5.3.2 Exclusión .....                                             | 18 |
| 5.3.3 Eliminación .....                                           | 19 |
| 5.4 Definición conceptual y operacional de las variables .....    | 20 |
| 5.4.1 Independientes .....                                        | 20 |
| 5.4.2 Dependientes .....                                          | 20 |

|       |                                                                                                              |    |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.5   | Análisis Estadístico .....                                                                                   | 21 |
| 5.6   | Consideraciones éticas .....                                                                                 | 21 |
| 5.7   | Fase experimental.....                                                                                       | 22 |
| 5.7.1 | Primera fase .....                                                                                           | 22 |
| 5.7.2 | Segunda fase: Formación de biofilm .....                                                                     | 26 |
| 5.7.3 | Tercera fase: Aplicación de los cementos a probar durante dos diferentes periodos de tiempo (3-7 días) ..... | 29 |
| 5.7.4 | Cuarta fase: Determinación de carga bacteriana mediante UFC y tinción Alamar Blue.....                       | 31 |
| 5.7.5 | Quinta fase: Observación de los discos de dentina al microscopio electrónico de barrido (MEB).....           | 34 |
| 6     | RESULTADOS.....                                                                                              | 35 |
| 6.1   | Fase antimicrobiana mediante el conteo UFC, tinción Alamar Blue y microscopio electrónico de barrido .....   | 35 |
| 6.2   | Conteo de UFC .....                                                                                          | 35 |
| 6.3   | Tinción Alamar Blue .....                                                                                    | 39 |
| 6.4   | Fase Microscópica .....                                                                                      | 42 |
| 7     | DISCUSIÓN .....                                                                                              | 48 |
| 8     | CONCLUSIONES .....                                                                                           | 55 |
| 9     | PERSPECTIVAS.....                                                                                            | 56 |
| 10    | BIBLIOGRAFÍA.....                                                                                            | 57 |
| 11    | ANEXOS .....                                                                                                 | 62 |
| 11.1  | Carta de aprobación del comité de ética.....                                                                 | 62 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Biopelícula bacteriana mixta adherida a la superficie del diente (tinción de Brown y Brenn, aumento $\times 1000$ ). Tomada del libro Vías de la pulpa .....                                      | 4  |
| Figura 2. Alamar Blue®. Tomada de catálogo de Invitrogen. N.º de catálogo DAL1025, DAL1100 .....                                                                                                            | 6  |
| Figura 3. Tomada de la página de internet. Odontocademix. Mex. ....                                                                                                                                         | 12 |
| Figura 4. Tomada de la página de internet <a href="https://www.dentsplysirona.com/en">https://www.dentsplysirona.com/en</a> .....                                                                           | 14 |
| Figura 5. Radiografía en sentido M-D y V-L .....                                                                                                                                                            | 23 |
| Figura 6. Ensanchado de los conductos radiculares .....                                                                                                                                                     | 24 |
| Figura 7. Corte de las muestras de 4mm de altura .....                                                                                                                                                      | 24 |
| Figura 8. Seccionado de los discos de dentina .....                                                                                                                                                         | 24 |
| Figura 9. Limpieza en baño ultrasónico, y esterilización de las muestras .....                                                                                                                              | 25 |
| Figura 10. Cepario de <i>Enterococcus faecalis</i> .....                                                                                                                                                    | 26 |
| Figura 11. Incubación de <i>E. Faecalis</i> en caldo BHI por 24 horas.....                                                                                                                                  | 27 |
| Figura 12. Activación de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> .....                                                                                                                                      | 27 |
| Figura 13. Comprobación de viabilidad bacteriana mediante tinción de Gram.....                                                                                                                              | 28 |
| Figura 14. Formación de <i>Enterococcus faecalis</i> por 2 semanas .....                                                                                                                                    | 28 |
| Figura 15. Lavado de las muestras con agua estéril por 1 minuto .....                                                                                                                                       | 29 |
| Figura 16. Muestras en contacto con los cementos en humedad relativa .....                                                                                                                                  | 30 |
| Figura 17. Colocación del cemento sellador endodóntico .....                                                                                                                                                | 30 |
| Figura 18. Cálculo del número de colonias en las placas: dilución recíproca de la muestra = número de bacterias / ml. Derechos reservados 2006 Pearson Education Inc. Publishing as Benjamin Cummings. .... | 31 |
| Figura 19. Diluciones $10^{-1}$ - $10^{-9}$ y Sembrado de <i>Enterococcus faecalis</i> .....                                                                                                                | 32 |
| Figura 20. Conteo de UFC .....                                                                                                                                                                              | 32 |

|                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 21. Colocando la tinción Alamar Blue.....                                                                                                                                                                                                | 33 |
| Figura 22. Lectura de la tinción Alamar Blue, mediante Espectrofotómetro.....                                                                                                                                                                   | 33 |
| Figura 23. Microscopio Electrónico de Barrido (Jeol, JSM-6510).....                                                                                                                                                                             | 34 |
| Figura 24. UFC presentes en placas de Agar BHI transcurridos 3 (A) y 7 días (B) con el sellador CeraSeal. ....                                                                                                                                  | 36 |
| Figura 25. UFC presentes en placas de Agar BHI transcurridos 3 (A) y 7 días (B) con el sellador AH Plus Biocerámico. ....                                                                                                                       | 36 |
| Figura 26. Control negativo del modelo de discos de dentina observado al MEB, en un aumento de 2 000 x.....                                                                                                                                     | 42 |
| Figura 27. Control positivo del modelo de discos de dentina observado al MEB, en un aumento de 4 000 x.....                                                                                                                                     | 43 |
| Figura 28. Control negativo del modelo de discos de dentina observado al MEB, en un aumento de 4 000 x.....                                                                                                                                     | 43 |
| Figura 29. Muestra de estudio donde se observa el biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i> (A), así como el sellador CeraSeal (B) en un período de incubación de 3 días (grupo A). En aumento de 2 000 x.....                                    | 44 |
| Figura 30. Muestra después de haber sido retirado el sellador CeraSeal a los 3 días de incubación (A1), a un aumento de 2 000 x, se observa la luz de los túbulos dentinarios con crecimiento bacteriano de <i>Enterococcus faecalis</i> . .... | 44 |
| Figura 31. Muestra de estudio donde se observa el biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i> (A), así como el sellador CeraSeal (B) en un período de incubación de 7 días (grupo A2). En aumento de 2000 x.....                                    | 45 |
| Figura 32. Muestra después de haber sido retirado el sellador CeraSeal a los 7 días de incubación (A1), a un aumento de 2 000 x, se observa la luz de los túbulos dentinarios con crecimiento bacteriano de <i>Enterococcus faecalis</i> . .... | 45 |
| Figura 33. Muestra de estudio donde se observa el biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i> (A), así como el sellador AH-Plus Biocerámico (B) en un período de incubación de 3 días (grupo B1). En aumento de 2 000 x.....                        | 46 |

Figura 34. Muestra después de haber sido retirado el sellador AH Plus Biocerámico a los 3 días de incubación (B1), a un aumento de 2 000 x..... 46

Figura 35. Muestra de estudio donde se observa el biofilm de *Enterococcus faecalis* (A), así como el sellador AH Plus Biocerámico (B) en un período de incubación de 7 días (grupo B2). En aumento de 2 000 x..... 47

Figura 36. Muestra después de haber sido retirado el sellador AH Plus Biocerámico a los 7 días de incubación (B2), a un aumento de 2 000 x..... 47

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características del sellador CeraSeal ..... 11

Tabla 2. Características del sellador AH Plus Biocerámico..... 13

Tabla 3. Tabla que muestra los grupos de estudio de los cementos CeraSeal y AH Plus Biocerámico con los diferentes tiempos de incubación ..... 25

Tabla 4. Resultados de las unidades formadoras de colonias por ml de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 3 días de incubación..... 37

Tabla 5. Resultados de las unidades formadoras de colonias por ml de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 7 días de incubación..... 38

Tabla 6. Resultados de los promedios, desviación estándar y límite superior e inferior de las unidades formadoras de colonias por mililitro de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 3 y 7 días de incubación..... 38

Tabla 7. Resultado de la absorbancia de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 3 días mediante la tinción Alamar Blue. .... 40

Tabla 8. Resultado de la absorbancia de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 7 días mediante la tinción Alamar Blue. .... 40

Tabla 9. Resultados de los promedios, desviación estándar y límite superior e inferior de la absorbancia de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 3 y 7 días de incubación. .... 41

## EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS CEMENTOS AH PLUS BIOCERÁMICO® Y CERASEAL® EN UN BIOFILM DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.

C.D. Llilenis Mendoza Arrocha

Maestría en Endodoncia

Universidad Autónoma de San Luis Potosí

2023, San Luis Potosí, México

**Introducción:** El sellador endodóntico tiene como función servir de agente de unión entre la dentina y a gutapercha, dejando atrapadas bacterias residuales como el *Enterococcus faecalis*, y así evitar la reinfección debido a bacterias remanentes.

**Objetivo:** Evaluación de la capacidad antimicrobiana de los cementos selladores AH Plus Biocerámico® y CeraSeal® en un biofilm de *Enterococcus faecalis*.

**Metodología:** Se realizó un biofilm de *E. faecalis* de 2 semanas utilizando el método de discos de dentina, colocándole los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico, para posterior conteo de UFC, tinción de Alamar Blue y observación al MEB.

**Resultados:** Se observó una disminución de la carga bacteriana estadísticamente significativa para todos los grupos, pero más marcada para el grupo de CeraSeal a los 7 días, lo que se comprobó mediante el conteo de UFC, tinción Alamar Blue y observación al MEB.

**Conclusión:** Los selladores no penetran el biofilm, actuando principalmente sobre las células expuestas después de la preparación quimiomecánica.

El sellador AH Plus Biocerámico, presentó actividad antimicrobiana a los 3 días, no siendo tan marcada al como la del CeraSeal a los 7 días.

El sellador CeraSeal a los 7 días de fraguado mostró una disminución de la carga bacteriana en comparación al AH Plus Biocerámico, esto debido a el tiempo de fraguado y la alcalinidad del pH.

**Palabras Clave:** Capacidad antimicrobiana, discos de dentina, sellador biocerámico, CeraSeal, AH Plus Biocerámico, Alamar Blue, Microscopio electrónico de barrido.

## INTRODUCCIÓN

El objetivo central del tratamiento de endodoncia es la eliminación de bacterias dentro del conducto radicular y prevenir la reinfección posterior al tratamiento de endodoncia, esto es posible mediante una preparación quimiomecánica del sistema de conducto radicular, seguido de un sellado hermético del sistema de conductos, este sellado hermético implica el uso de gutapercha en combinación con un cemento sellador, para evitar la entrada de bacterias, ya sea desde la cavidad bucal o desde la parte apical. En este sellado hermético y tridimensional, los cementos selladores endodónticos juegan un papel importante al sepultar las bacterias residuales y evitar el paso de nutrientes hacia las mismas. Puesto que, como es de conocimiento ningún protocolo de limpieza y desinfección permite la erradicación total de las bacterias dentro del sistema de conductos radiculares, sobre todo en aquellos de forma ovalada o irregular,(1) quedando remanentes que pueden proliferar interfiriendo con el éxito del tratamiento endodóntico.

El sellador se utiliza como una pasta fina que tiene como función servir de agente de unión entre la dentina y a gutapercha, puesto que no hay adherencia entre ambas, y es así como el cemento penetra en los túbulos dentinarios del conducto radicular dejando atrapadas bacterias residuales. Uno de los microorganismos mayormente reconocido por su prevalencia en infecciones endodónticas secundarias es el *Enterococcus faecalis*. El cual además de su habilidad para colonizar los túbulos dentinarios, cuenta con múltiples mecanismos para resistir tanto la preparación quimiomecánica, como el proceso de obturación. Esta es la razón por la cual es el microorganismo de elección en los estudios *in vitro* para evaluar la eficacia antimicrobiana de los selladores endodónticos.

En la actualidad existe una gama de selladores endodónticos, a base de diferentes componentes como, a base de óxido de zinc y eugenol, resina, hidróxido de calcio, silicatos de calcio(biocerámicos) entre otros. En el caso de los biocerámicos desde su introducción en la década de los 90 por Mohamed Torabinejad, solo era utilizado para el sellado de perforaciones, apicoformaciones, apicectomías. Posterior a ello en el año

2007 se fueron introduciendo los cementos selladores de conducto y desde ese entonces hasta la actualidad se han incorporado distintos cementos biocerámicos, como es el caso del Ceraseal® introducido en el año 2019, el cual es químicamente estable, posee una fuerza de unión muy alta con la dentina por formación de cristales de hidroxiapatita.(2) Otro sellador biocerámico de nueva introducción es el AH Plus Biocerámico®, incorporado al mercado en enero del 2022 , posee un tiempo de fraguado de 2-3 horas, solubilidad menor de 3% y excelente fluidez, dándole la propiedad de penetrar mejor en túbulos dentinarios, además es radiopaco, y fácil de manejar. Sin embargo sus propiedades antibacterianas no han sido investigadas, comparándolo con otro cemento biocerámico, por lo que hay poca o ninguna información disponible sobre la eficacia antimicrobiana de AH Plus Biocerámico® .

En este estudio se utilizó un biofilm maduro de 2 semanas utilizando el modelo de discos dentina infectada propuesto por Ma Jingzhi (3). Se realizó el conteo de UFC/mL, posteriormente la tinción Alamar Blue y observación al microscopio electrónico de barrido, para evaluar la capacidad antimicrobiana de cementos selladores biocerámicos Ceraseal® y AH Plus Biocerámico® contra un biofilm de *Enterococcus Faecalis*, *In Vitro*.

# 1 MARCO TEÓRICO

## 1.1 Infección radicular

La invasión bacteriana que ocurre hacia los túbulos dentinarios por causa de diversos microorganismos y sus subproductos son los principales agentes causantes de patologías pulpares y perirradiculares. Aunque la finalidad del tratamiento endodóntico sea la eliminación de los microorganismos dentro del sistema de conductos radiculares y prevenir la reinfección, aun así se puede dar ésta, debido a que se ha demostrado que existen áreas de las paredes del conducto radicular donde los instrumentos e irrigación no logran desinfectar, quedándose bacterias adheridas en las diversas ramificaciones apicales e istmos causando fracaso del tratamiento endodóntico y/o enfermedades periapicales. (1)

Se ha demostrado que las enfermedades del tejido pulpar pueden estar relacionadas con diversos microorganismos; tales como bacterias, hongos, e incluso virus, así como sus factores patógenos, siendo las bacterias el principal agente infeccioso. Estas afecciones al tejido pulpar se inician y desarrollan por microorganismos miembros de comunidades metabólicamente integradas llamadas biopelículas. Una biopelícula se puede definir como una comunidad microbiana multicelular sésil caracterizada por células que están firmemente adheridas a una superficie y envueltas en una matriz de producción propia de sustancia polimérica extracelular (EPS), compuesta principalmente de polisacáridos, y también proteínas y ácidos nucleicos. Las biopelículas endodónticas pueden alcanzar hasta 300 o más capas de células de espesor. Las micro colonias individuales pueden consistir en una sola especie bacteriana, pero con mayor frecuencia están compuestas por varias especies diferentes en una comunidad mixta, en donde incluyen un proceso de invasión microbiana, que se va multiplicando para iniciar una actividad patógena.

Para el estudio de la virulencia, interacciones, susceptibilidad a los diferentes tratamientos antimicrobianos sistémicos y locales, el cultivo de microorganismos ha sido una de las técnicas más utilizadas y de primera elección, no obstante, se ha determinado que el ambiente endodóntico contiene microorganismos no cultivables, que influyen a la persistencia de enfermedades dentro del conducto radicular. Uno de

estos microorganismos que presenta una elevada resistencia al tratamiento de conductos radiculares, es el *Enterococcus faecalis*, siendo este uno de los principales microorganismos presentes en las infecciones persistentes.(4)



Figura 1. Biopelícula bacteriana mixta adherida a la superficie del diente (tinción de Brown y Brenn, aumento  $\times 1000$ ). Tomada del libro Vías de la pulpa

## 1.2 Métodos para la identificación microbiana en endodoncia

*Enterococcus faecalis* es una de las especies del microbiota endodóntico más estudiada, sobre todo en infecciones recurrentes, por lo que se han utilizados diversos análisis de cultivo, tinciones y métodos moleculares.

El análisis de cultivo convencional proporciona información específica sobre la etiología de la periodontitis apical, composición de la microbiología en diferentes situaciones clínicas, efectos de los procedimientos de tratamiento en la eliminación bacteriana y la susceptibilidad antibiótica. Para medir la eficacia antimicrobiana de los diversos materiales endodónticos, existen diferentes pruebas como, difusión en agar, contacto directo así como modelo de discos de dentina.

Dentro de estas pruebas es importante señalar que la difusión en agar no distingue entre las propiedades microbistáticas y microbicidas del material, ya que depende de la difusión y propiedades físicas de los materiales, por lo que ha sido propuesto pruebas de contacto directo, de esta manera se mide el efecto del contacto directo y cercano entre los microorganismos y el material a probar, independientemente de la solubilidad y difusibilidad de los componentes antimicrobianos del material. (7,8) Cabe destacar que ninguno de estos ensayos experimentales considera varios factores, como la química del diente y la formación de biopelículas.(9) Además, la presencia de dentina reduce la destrucción bacteriana de los agentes antimicrobianos endodónticos, esto debido al efecto amortiguador de la dentina, todos estos factores complican y debilitan el impacto de los agente antibacterianos sobre las bacterias en el conducto radicular.(10,11) Para superar estas limitaciones, Ma, Jingzhi et al.(3) desarrolló un modelo tridimensional in vitro a base de discos de dentina para la evaluación cuantitativa de la viabilidad bacteriana en la dentina, ya que se ha demostrado que este modelo permite visualizar la penetración bacteriana en los túbulos dentinarios hasta 500 µm del conducto radicular, simulando más de cerca el entorno clínico, por lo que mejora la validez de los estudios de agentes antimicrobianos.(12) Ya que este modelo se utiliza para medir la efectividad de los medicamentos y soluciones desinfectantes contra biopelículas bacterianas en la dentina, además ha obtenido

resultados reproducibles en entornos estandarizados mediante el uso de diferentes tinciones y observaciones al microscopio electrónico de barrido. (9) Una de las tinciones de uso para medir la efectividad antimicrobiana de los diferentes cementos endodónticos, es Alamar Blue, la cual es una solución de color azul, no tóxica, a base de resazurina, indicador de la actividad metabólica, permeable a las células, bacterias, plantas y hongos. Cuando la resazurina ingresa al interior del microorganismo en estudio, ésta se reduce a resorufina, produciendo una fluorescencia roja brillante, el cual es un indicador del número de células vivas.(13) Se ha evaluado como una de las mejores alternativas para complementar el recuento de Unidades formadoras de colonias, evaluándose mediante absorbancia, o fluorescencia, (14) de diversos microorganismos como es el caso de *Enterococcus faecalis*, microorganismo mencionado como resistente a la terapia endodóntica.



Figura 2. Alamar Blue®. Tomada de catálogo de Invitrogen. N.º de catálogo DAL1025, DAL1100

#### 1.4 *Enterococcus faecalis*.

*Enterococcus faecalis* es un enterococo Gram positivo, anaerobio facultativo que posee la capacidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno, se presenta en pares y en cadenas largas y cortas, posee la capacidad de sobrevivir a ambientes muy hostiles, incluido un pH altamente alcalino, crecer en un rango de 10-45°C y sobrevivir a una temperatura de 60°C durante 30 minutos. Dentro de sus factores de virulencia incluyen enzimas líticas, citolisina, sustancia de agregación, feromonas y ácido

lipoteícoico, y se ha demostrado que se adhiere a las células huésped, expresando proteínas que le permiten competir con otras células bacterianas y altera las respuestas del huésped.(15) No se limita a la posesión de varios factores de virulencia, sino que es capaz de compartir estos rasgos de virulencia entre especies, contribuyendo aún más a su supervivencia y capacidad para causar patologías. Este microorganismo supera los desafíos dentro del sistema de conductos radiculares de diferentes maneras, una de ellas es que exhibe polimorfismos genéticos generalizados, tiene la capacidad de soportar largos periodos de inanición hasta poder disponer de un suministro nutricional adecuado. También posee enzimas como la serina proteasa, gelatinasa y proteína de unión al colágeno de los túbulos dentinarios que le facilita permanecer viables dentro de ellos, lo que le da la habilidad de causar enfermedades periapicales.(16)

Se ha demostrado que este microorganismo es resistente a los medicamentos intraconducto, como el hidróxido de calcio, el cual en varios estudios ha resultado ser ineficaz para erradicar por completo esta bacteria, ya que es capaz de formar una biopelícula que la protege, y mantiene pasivamente la homeostasis del pH. Esto se logra mediante el bombeo de protones en la célula para reducir el pH interno, y ayudada con la capacidad amortiguadora de la dentina, hace que un pH de 11,5 en los túbulos dentinarios no se pueda mantener, confiriéndole hasta 1000 veces más resistencia.(17) Debido a estas características de supervivencia *E. faecalis* es uno de los microorganismos con más prevalencia en infecciones endodónticas secundarias, presentando un rango de incidencia de entre 24% a 77%, es capaz de resistir procedimientos que se realizan durante el tratamiento endodóntico y sobrevivir en los conductos obturados sin soporte de otras bacterias. Esto hace imprescindible realizar una correcta desinfección del sistema de conductos radiculares y la permeabilidad de los túbulos dentinarios logrando la eliminación eficiente de las bacterias que pudiesen quedar alojadas en la luz de los túbulos para así evitar la recontaminación.(4,18) Cabe destacar que los selladores también juegan un papel importante al tener una capacidad antimicrobiana.

### 1.3 Cementos selladores endodónticos

La obturación es el relleno tridimensional y hermético del sistema de conductos. Según la asociación americana de endodoncia (AAE) 2009, es el “llenado tridimensional de todo el conducto radicular, lo más cercano posible de la unión cemento-dentinaria, siendo la última etapa operatoria del tratamiento de conductos radiculares, y tiene valor fundamental en el éxito a mediano y largo plazo, por lo que su objetivo final es la obturación completa del sistema de conductos radiculares para lograr la preservación del diente como una unidad funcional sana”.<sup>(19)</sup>

Los selladores endodónticos son utilizados en la obturación del tratamiento de conducto radicular, representan una parte esencial en cuanto al tratamiento final, ya que no solo deben proporcionar un adecuado sellado entre el cono de gutapercha y las paredes de la dentina, al ser una pasta fina y pegajosa, sino que también previene la difusión del exudado proveniente de los tejidos perirradiculares a los espacios que se pueden dar entre el material de obturación y las paredes del conducto radicular. De esta manera los selladores imposibilitan el establecimiento de las bacterias remanentes en las irregularidades, conductos laterales, accesorios y espacios del conducto que se pueden dar durante un proceso de bacteremia lo cual provoca inflamación y patología periapicales.<sup>(20)</sup>

Grossman *et. al* determinó los requisitos y enumeró las características ideales que debe poseer un sellador, esto constituye la base de las investigaciones sobre los cementos selladores; a partir de estos estudios surgen nuevos cementos selladores elaborados a base de diversos componentes que permiten obtener propiedades biológicas y físicas adecuadas. Dentro de las características ideales que debe tener un cemento, incluyen las siguientes:

- 1) Debe ser pegajoso a la mezcla para proporcionar buena adherencia a la pared del conducto una vez fraguado.
- 2) Proporción de un sellado hermético dentro del conducto radicular
- 3) Radiopaco para poder ser visible en las radiografías

- 4) Las partículas del polvo deben ser muy finas para que puedan mezclarse fácilmente con el líquido.
- 5) No debe presentar contracción volumétrica al fraguar
- 6) No debe pigmentar la estructura dentinaria
- 7) Debe ser bacteriostático o al menos no favorecer la proliferación de bacterias.
- 8) Debe fraguarse lentamente
- 9) Es insoluble en líquidos bucales
- 10) Tolerado por los tejidos vitales, debe ser biocompatibles
- 11) Debe poder ser solubilizarse
- 12) No debe generar una reacción inmunitaria al entrar en contacto con el tejido periapical
- 13) No debe ser carcinogénico, ni mutagénico.

En la actualidad existen diversos cementos selladores, diferenciados entre sí, de acuerdo a su composición, entre ellos se puede mencionar:

- A base de Óxido de Zinc y Eugenol,
- Hidróxido de calcio
- Ionómero de vidrio
- Resina
- Silicona
- Biocerámicos

### **1.3.1 Cementos Biocerámicos**

Los cementos biocerámicos fueron introducidos a principios de la década de los 90, desarrollado a base de cemento Portland, siendo este uno de los materiales más empleados en construcción. Este material es fabricado por un proceso de fusión parcial de materias primas o clinkerización (proceso que incluye la descarbonatación de piedra caliza a 400-600°C, formación de silicato dicálcico, aluminato tricálcico y aluminoferrita tetracálcica entre 800 y 1200°C y producción de silicato tricálcico a

1400°C mediante reacción de silicato dicálcico con la cal libre). Inicialmente los biocerámicos se incorporaron como material de obturación retrograda y perforaciones. Siendo el primer cemento utilizado el MTA (Mineral Trioxide Aggregate), con propiedades biológicas y fisicoquímicas favorables, por lo que a través del tiempo se ha utilizado en endodoncia para diversos procedimientos como recubrimiento pulpar, apexificación, retrobturaciones, reparaciones de perforaciones, y selladores de conductos radiculares.

En el 2007 se introdujo el primer sellador endodóntico biocerámico, siendo este el iRoot SP (Innovative Bioceramix, Vancouver, Canadá). Desde entonces, se introdujeron otros materiales para delimitar esta nueva clase de selladores endodónticos de los selladores convencionales, lo que ha permitido que se vayan desarrollando nuevos productos biocerámicos con propiedades óptimas.(4,21) Estos biocerámicos (base de silicato de calcio) son materiales hidráulicos que fraguan con agua/humedad, y en presencia de agua, los silicatos de calcio forman un gel de hidrato de silicato de calcio (CSH,  $\text{CaO} \cdot \text{SiO} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), que conduce a la formación de hidróxido de calcio ( $\text{CaOH}_2$ ). (22) Se dan intercambios iónicos, predominantemente silicio ( $\text{Si}^{4+}$ ) de silicato de calcio hidratado (CSH), y los iones de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ). La disociación del hidróxido de calcio contribuye a las propiedades biológicas de los cementos biocerámicos. Estos iones  $\text{Si}^{4+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$  proporcionan diferentes efectos, ya que promueven la biomineralización, mientras que los iones OH aumentan el pH ambiental y brindan propiedades antimicrobianas, presentan un pH alcalino y tienen la capacidad de liberar iones de calcio resultando en el depósito de una capa de apatita, lo que puede explicar las propiedades de bioactividad y biocompatibilidad.(23)

Otra de las propiedades requeridas es la actividad antimicrobiana, la cual es la capacidad que posee un material para inhibir el aumento de una población bacteriana o para eliminarla, y que se puede expresar cuantitativamente con pruebas *in vitro*. Los cementos selladores deben poseer acción antimicrobiana, para actuar contra las bacterias persistentes aún después de la preparación quimiomecánica del conducto radicular.(24) La actividad antimicrobiana que presentan los cementos biocerámicos se da por la superficie de contacto, ya que estos materiales forman polvos porosos que contienen nanocristales con diámetros de 1-3nm que evitan la adhesión

bacteriana, también se da como resultado de la precipitación in situ después del tiempo de fraguado, que conduce al secuestro de bacterias, pH alcalino y la liberación de ion hidroxilo, siendo estos factores responsables directos del daño a los lípidos, proteínas y ADN en las membranas celulares de los microorganismos. Otro mecanismo antimicrobiano de estos materiales es la presencia de calcio en su composición, lo que reduce la presencia de dióxido de carbono en los tejidos, la cual es de importancia para las bacterias anaerobias.(25)

### 1.3.1.1 CeraSeal®

Es un sellador endodóntico premezclado que contiene silicatos de calcio, óxido de circonio y agente espesante. La humedad en los túbulos dentinarios y la reacción química del silicato de calcio producen la cristalización del hidróxido de calcio. El material garantiza el sellado hermético del conducto radicular y evita la entrada y propagación de bacterias. Es dimensionalmente estable, no se encoge ni se expande en el conducto radicular y evita las infracciones o fracturas de la raíz al mantener su volumen estable. Este cemento induce un alto grado de liberación de calcio. Posee un tiempo de fraguado de 2-5 horas y media aproximadamente, posee un pH alto de 12,73 y una excelente radio-opacidad.(26)

| Tipo de Cemento Sellador | Fabricante                                                                                                        | Composición                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CeraSeal                 | Meta Biomed Co., 270, Osongsaengmyeong 1-ro, Osong-eup, Heungdeok-gu, Cheongju-sí, Chungcheongbuk-do, South Korea | Silicato (20-30%)<br>Silicato Dicálcico (1-10%) como componentes bioactivos.<br>Aluminato tricálcico (1-10%)<br>Dióxido de circonio (45-50%) como radiopacificadores.<br>Agentes espesantes |

Tabla 1. Características del sellador CeraSeal



Figura 3. Tomada de la página de internet. Odontocademix. Mex.

### 1.3.2 AH Plus Biocerámico®

Este cemento posee un tiempo de fraguado de 2-3 horas, con una solubilidad menor al 3%, posee un pH alcalino, quien juega un papel importante, ya que esto neutraliza el ácido láctico del osteoclasto y aumenta la deposición de componentes mineralizados. Contiene agentes espesantes o gelificantes las cuales son sustancias que, al agregarse a una mezcla, aumentan su viscosidad y mejoran su textura, aumentan su estabilidad, sin modificar sustancialmente sus propiedades. (25)

| Tipo de Cemento<br>sellador | Fabricante                        | Composición                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AH Plus Biocerámico         | Dentsply Sirona,<br>Charlotte, NC | <p>Dióxido de Circonio (50–70 %) como radiopacificador.</p> <p>Silicato tricálcico (5–15 %) como componente bioactivo.</p> <p>Dimetilsulfóxido (10-30%)</p> <p>Trazas de Carbonato de Litio (0,5 %).</p> <p>Agentes espesantes (&lt;6 %)</p> |

Tabla 2. Características del sellador AH Plus Biocerámico



Figura 4. Tomada de la página de internet <https://www.dentsplysirona.com/en>

De acuerdo a autores como Seung et al, Nawal et al, entre otros, mencionaron que la capacidad antimicrobiana de diferentes selladores endodónticos ha sido evaluada a través de diferentes ensayos, como contacto directo, difusión en agar, y discos de dentina. Sin embargo, no se han evaluado estos dos cementos biocerámicos, con técnica de discos de dentina en un biofilm de maduro de 2 semanas de incubación.

## 2 JUSTIFICACIÓN

Aún después de la limpieza, conformación e irrigación se pueden encontrar bacterias remanentes dentro del conducto radicular afectando en gran medida el éxito del tratamiento endodóntico. El uso de cementos selladores es imprescindible en la etapa final del tratamiento, por lo que contar con uno que tenga actividad antimicrobiana podría reducir el número de microorganismos residuales mejorando el pronóstico del tratamiento. Las reacciones químicas, composición y los productos finales del fraguado, le proporcionan diversas capacidades, entre ellas, el efecto antibacteriano por lo que es importante evaluar la eficacia antibacteriana en un modelo que se asemeje más a la realidad del órgano dental in vivo, como lo es el modelo de discos de dentina sobre un biofilm maduro de 2 semanas. No existe alguna evaluación con este tipo de modelo para los cementos AH Plus Biocerámico y CeraSeal por lo que este estudio nos proporcionaría mayor información sobre su actividad antimicrobiana.

### 2.1 Preguntas de investigación

¿Presentara diferencia en su actividad antimicrobiana el sellador AH Plus Biocerámico® en comparación con el sellador CeraSeal® en la eliminación de biofilm de *Enterococcus faecalis*?

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 General

Evaluar capacidad antimicrobiana de los cementos selladores AH Plus Biocerámico® y CeraSeal® en un biofilm de *Enterococcus faecalis*.

#### 3.2 Específicos

- Formar biofilm de *Enterococcus faecalis* por método de flujo laminar.
- Determinar la actividad antimicrobiana del cemento sellador AH Plus Biocerámico® sobre un biofilm de *Enterococcus faecalis* a diferentes periodos de tiempo.
- Determinar la actividad antimicrobiana del cemento sellador CeraSeal® sobre un biofilm de *Enterococcus faecalis* a diferentes periodos de tiempo.

## 4 HIPÓTESIS

Ha. La actividad antimicrobiana del cemento sellador AH Plus Biocerámico® será más efectiva sobre un biofilm de *Enterococcus Faecalis* comparado con el cemento CeraSeal®

Ho. La actividad antimicrobiana del cemento sellador AH Plus® Biocerámico no será más efectiva sobre un biofilm de *Enterococcus Faecalis* comparado con el cemento Ceraseal®

## **5 METODOLOGÍA**

### **5.1 Lugar de realización**

- Laboratorio de Preclínica de la Maestría en Endodoncia, Facultad de Estomatología, UASLP.
- Laboratorio multidisciplinario de la Maestría en Endodoncia Facultad de Estomatología, UASLP.
- Laboratorio de Ciencias Básicas, Facultad de Estomatología, UASLP.
- Laboratorio de Doctorado de Ciencias Odontológicas, Facultad de Estomatología, UASLP.

### **5.2 Diseño de estudio**

- Experimental *In-Vitro*.
- Prospectivo y longitudinal.

### **5.3 Criterios de selección**

#### **5.3.1 Inclusión**

- Piezas dentarias unirradiculares
- Raíces intactas

#### **5.3.2 Exclusión**

- Piezas dentarias con caries radicular
- Piezas dentarias con fisuras o fractura
- Piezas dentarias con tratamiento endodóntico previo
- Piezas dentarias multirradiculares

### 5.3.3 Eliminación

- Discos sin medida correcta y mal seccionados
- Discos contaminados

## **5.4 Definición conceptual y operacional de las variables**

### **5.4.1 Independientes**

#### **5.4.1.1 Cemento sellador**

##### **Definición conceptual**

Material complementario en la obturación de conductos radiculares, el cual llena las zonas vacías entre el material de obturación y las paredes del conducto radicular, de la misma manera impide el establecimiento de las bacterias remanentes en los espacios del conducto

##### **Definición operacional**

Se colocará el cemento mediante el uso de jeringas en los discos de dentina, para la realización de diluciones seriadas, tinción alamar Blue y observación en el microscopio electrónico de barrido.

**Escala de medición:** Categórica nominal. Dicotómica

### **5.4.2 Dependientes**

#### **5.4.2.1 Capacidad antimicrobiana**

##### **Definición conceptual**

Facilidad de un fármaco u otro agente para destruir bacterias, por lo que los cementos selladores deben ser capaces de modificar las condiciones ambientales actuando en el pH e idealmente contener una sustancia antimicrobiana para prevenir la proliferación bacteriana en el conducto radicular.

##### **Definición operacional**

Se cuantificará las unidades formadoras de colonia presentes después de 24 horas de haber realizado las diluciones seriadas. Mediante la medición de la absorbancia después de 3 horas de haber realizado la tinción alamar blue y a través de la observación en el microscopio electrónico de barrido a 200, 500, 2 000 y 4 000 x.

**Escala de Medición:** continua de razón.

## 5.5 Análisis Estadístico

Los resultados de la capacidad antimicrobiana de los diferentes selladores endodónticos se analizaron en el programa estadístico SPSS versión 23 (SPSS para Windows; SPSS Inc, Chicago, IL) donde se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas. Se calculó la media de los valores de log 10 CFU/mL y la desviación estándar, de igual manera para la tinción de Alamar Blue. Los datos para UFC se analizaron por análisis de Kruskal Wallis, seguido de post-hoc, para la comparación múltiple entre grupos; mientras que para el análisis de la tinción Alamar Blue se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido por Tukey para la comparación múltiple entre grupos. El índice de confianza fue del 95%. Todos estos valores se representan a través de estadística descriptiva, utilizando gráficas y tablas, que muestran las medidas de tendencia central y variabilidad.

## 5.6 Consideraciones éticas

Este proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética en investigación de la Facultad de Estomatología de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, con la siguiente clave: **CEI-FE-076-022**

El manejo de residuos del estudio se realizó según el cumplimiento a lo establecido en la fracción 1 del artículo 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, con fecha de 2005, que se publicó en el Diario Oficial de la Federación, con carácter de proyecto la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental-salud ambiental-Residuos peligrosos biológicos-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo.

Las piezas dentales que se utilizaron para la realización de este proyecto fueron donadas por consultorios privados y clínicos dentales, por lo que los datos de los pacientes son de origen desconocido.

Los residuos Peligrosos Biológicos Infecciosos (RPBI) que se generaron durante el proceso del proyecto fueron manejadas de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana.NOM-087-ECOL-SSA1-2002

## 5.7 Fase experimental

La técnica experimental se dividió en las siguientes fases:

**Primera fase:** Recolección y selección

- Preparación de las muestras
  - Estandarización, limpieza y esterilización

**Segunda fase:** Formación de biofilm

- Activación de la cepa de *E. faecalis*
- Formación de biofilm de 2 semanas por método de flujo laminar

**Tercera fase:** Aplicación de los cementos a probar durante dos diferentes periodos de tiempo (3-7 días)

**Cuarta fase:** Determinación de carga bacteriana mediante UFC y tinción Alamar Blue

**Quinta fase:** Observación de los discos al MEB

### 5.7.1 Primera fase

#### Recolección y selección

Las muestras utilizadas para este estudio, fueron piezas dentales humanas extraídas, obtenidas de consultorios particulares de la zona centro de San Luis Potosí. Una vez obtenidas las muestras se procedió a lavar con Hipoclorito de Sodio al 0,05% mediante la ayuda de un cepillo dental, esto para retirarle los restos de tejido aún presentes en la superficie de las piezas dentales; después de ello se almacenaron en agua estéril hasta su selección.

En la selección de las muestras se incluyó piezas dentales unirradiculares, con raíces intactas, esto se comprobó mediante la toma de radiografías periapicales en sentido Mesio-Lingual y Disto-Lingual, con el radiovisiógrafo (RVG Nano Pix 2. Eighteeth). Al final se escogieron 70 piezas para el estudio.



Figura 5. Radiografía en sentido M-D y V-L

### Preparación de las muestras

- **Estandarización, limpieza y esterilización de las muestras**

Cada pieza dental se seccionó horizontalmente a 1mm por debajo de la unión C-E, y posteriormente se midió con calibrador (Boley-Gauge), a partir de ese corte se obtiene discos de 4mm de longitud, para este fin se utilizó discos de diamante (Tmishion) de 0,6 mm de grosor y diámetro de 10 mm, ajustado en una pieza de mano de baja velocidad. Cabe destacar que de cada raíz se obtuvo un solo disco. Una vez obtenidos los discos de dentina de 4mm de altura se procedió a realizar el ensanchamiento de los conductos, para esto se sujetó los discos con una pinza de mosco, después se fue ensanchando la luz del conducto radicular con fresas Gate-Glidden (Flydent) #1-5.



Figura 7. Corte de las muestras de 4mm de altura



Figura 6. Ensanchado de los conductos radiculares

Cada disco de dentina se midió a la mitad y después se colocó en cera rosada, que sirvió como soporte para ser seccionado con disco de diamante (10 mm x 0,6 mm) obteniendo de las 70 muestras 140 mitades semicilíndrica

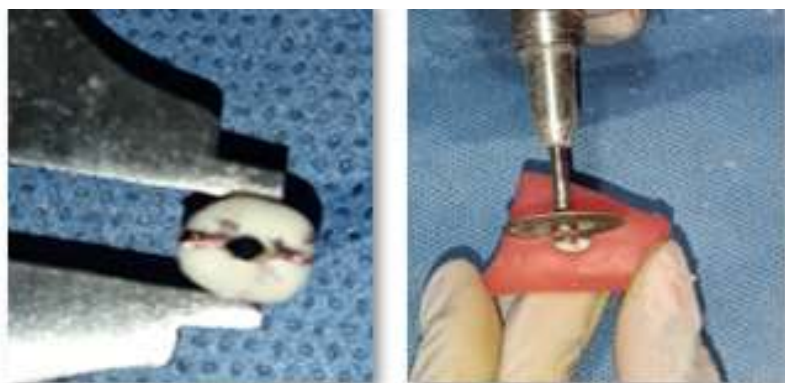


Figura 8. Seccionado de los discos de dentina

Las muestras fueron tratadas mediante la técnica de Haapassalo, la cual se llevó a cabo de la siguiente manera: se colocaron los semicírculos de dentina en dos vasos de precipitado con 15 mL de hipoclorito de sodio al 5,25%, introducidas al ultrasónico (Biosonic UC50) por un tiempo de 4 minutos; una vez culminado este tiempo se enjuaga con agua estéril colocadas en baño ultrasónico, después de ello, las muestras son sumergidas en 15 mL de EDTA 17% por 4 minutos también puestas en el ultrasónico, al culminar este tiempo se retira de la tina de ultrasonido y se enjuaga con agua estéril hasta observarse que se pierda la turbidez del agua. Posteriormente fueron colocadas en bolsas de esterilización y llevadas a la autoclave a 121°C, 14 lb de presión por un tiempo de 20 minutos.



Figura 9. Limpieza en baño ultrasónico, y esterilización de las muestras

| Grupos           | Número de muestras | Tipo de cemento     | Tiempo |
|------------------|--------------------|---------------------|--------|
| A1               | 30                 | CeraSeal            | 3 días |
| A2               | 30                 | CeraSeal            | 7 días |
| B1               | 30                 | AH Plus Biocerámico | 3 días |
| B2               | 30                 | AH Plus Biocerámico | 7 días |
| Control Positivo | 10                 | Con E. Faecalis     | ----   |
| Control Negativo | 10                 | Sin E. Faecalis     | ----   |

Tabla 3. Tabla que muestra los grupos de estudio de los cementos CeraSeal y AH Plus Biocerámico con los diferentes tiempos de incubación

### 5.7.2 Segunda fase: Formación de biofilm

- Activación de la cepa de *E. faecalis*
- Formación de biofilm de 2 semanas por método de flujo laminar

Activación de la cepa de *E. faecalis*. La cepa de *Enterococcus faecalis* utilizada en este proyecto fue obtenida del cepario del Laboratorio de investigación multidisciplinario de la Maestría de Endodoncia, UASLP, proveniente de paciente con periodontitis apical persistente, de la cepa seleccionada se tomó una muestra de *E. faecalis*, llevándolo al caldo de BHI por 24 horas a 35 C. Posterior a este tiempo, se realizó una siembra en placas de agar sangre y se incuban nuevamente durante 24 horas en la incubadora (Thermo Electron Corporation) para posteriormente realizar la observación macroscópica y microscópica del desarrollo bacteriano.

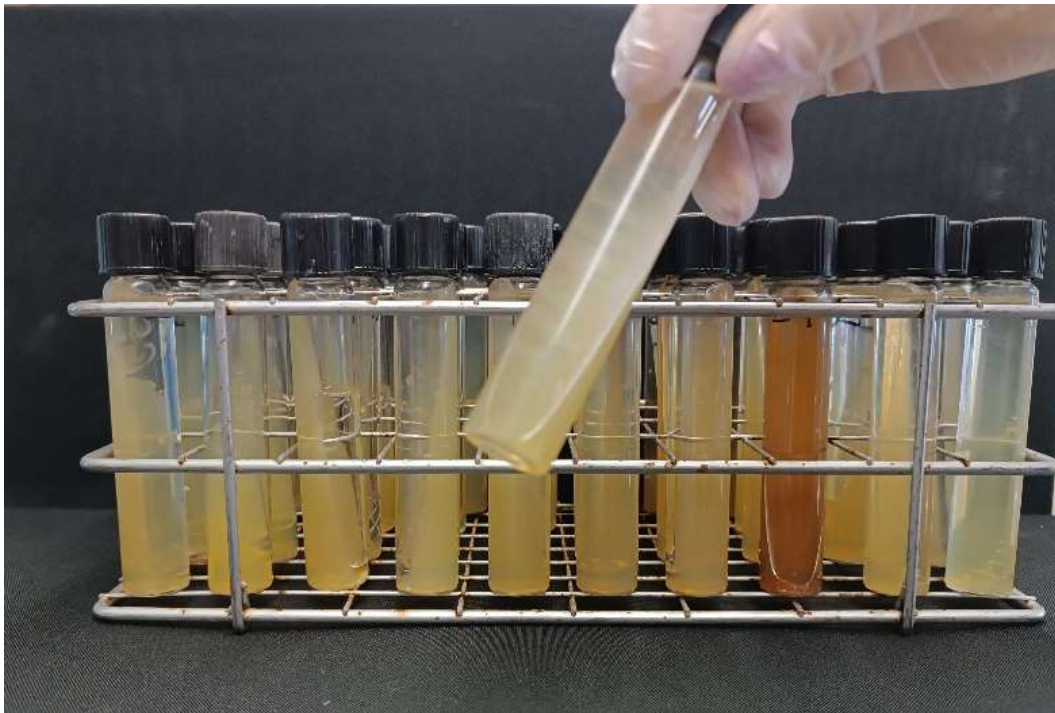


Figura 10. Cepario de *Enterococcus faecalis*

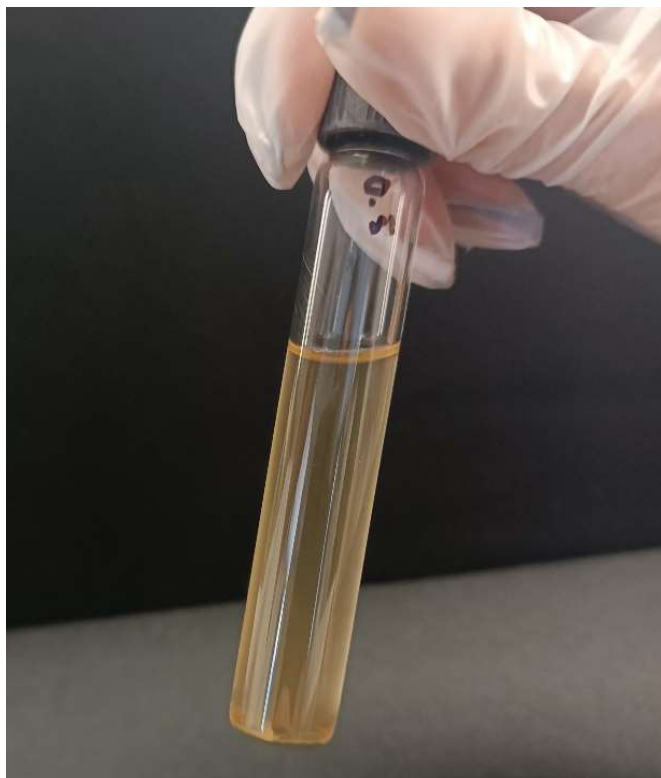


Figura 11. Incubación de *E. Faecalis* en caldo BHI por 24 horas

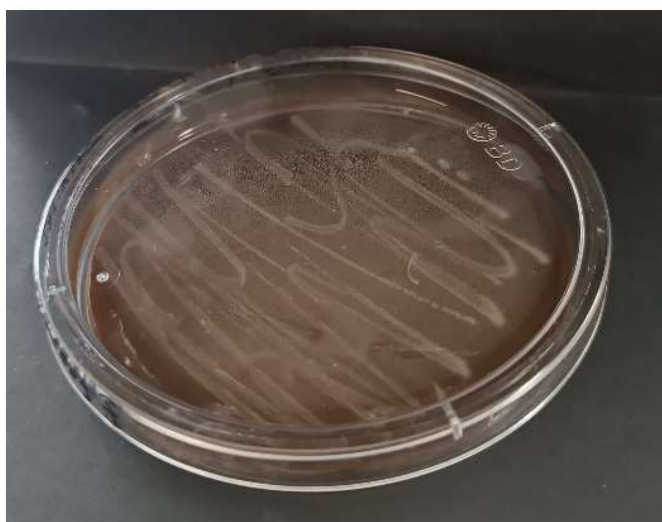


Figura 12. Activación de la cepa de *Enterococcus faecalis*

### Formación de biofilm de 2 semanas por método de flujo laminar

Una vez transcurrido ese tiempo se procedió a estandarizar espectrómicamente la suspensión bacteriana, con una absorbancia de 600 nm, y turbidez de Mc Farland 0,5. Cuando se obtuvo la suspensión bacteriana a la turbidez de McFarland de 0,5, se procedió a colocar 5 semicírculos de dentina en cada tubo de ensayo con tapa, los cuales contenían 200 microlitros de suspensión bacteriana de *Enterococcus faecalis* y 9 ml de caldo de BHI. Luego se incubó por 2 semanas, realizando recambios de caldo fresco de BHI cada 48 horas, esto con la finalidad de permitir la viabilidad bacteriana, comprobando su pureza mediante la tinción de Gram.



Figura 14. Formación de *Enterococcus faecalis* por 2 semanas

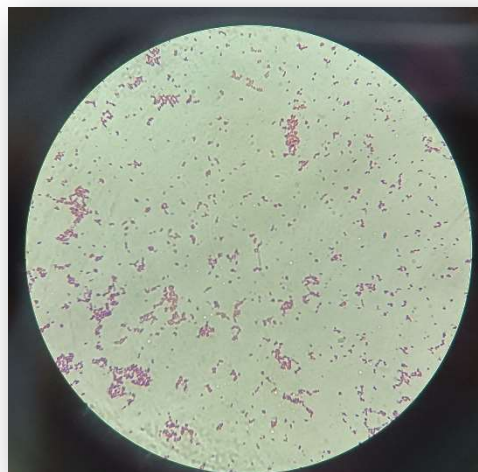


Figura 13. Comprobación de viabilidad bacteriana mediante tinción de Gram

### 5.7.3 Tercera fase: Aplicación de los cementos a probar durante dos diferentes periodos de tiempo (3-7 días)

Después de 2 semanas de formación del biofilm, se retiró de la incubadora las muestras con formación de biofilm y se procedió a lavar cada muestra con 1,5 ml de agua estéril, por un tiempo de 1 minuto, esto para eliminar las bacterias planctónicas, seguido de ello cada muestra se colocó sobre un papel filtro por 1 minuto, para su secado. Las 140 muestras fueron divididas aleatoriamente en cuatro grupos (n=30 por grupo) de acuerdo con el sellador endodóntico utilizado, de la siguiente manera: Ceraseal, AH Plus Biocerámico y dos grupos controles (positivo y negativo).

El cemento CeraSeal es un sellador premezclado listo para aplicar, el cual se colocó sobre la superficie interna de los semicírculos de dentina. Igualmente, el cemento AHPlus Biocerámico es un material premezclado que se aplicó de la misma manera que el cemento Ceraseal. Posteriormente se incubaron las muestras en humedad relativa del 100% dentro de una estufa bacteriológica a  $35 \pm 2$  °C por los periodos de tiempo 3 y 7 días, cuidando que permanecieran siempre en humedad.



Figura 15. Lavado de las muestras con agua estéril por 1 minuto

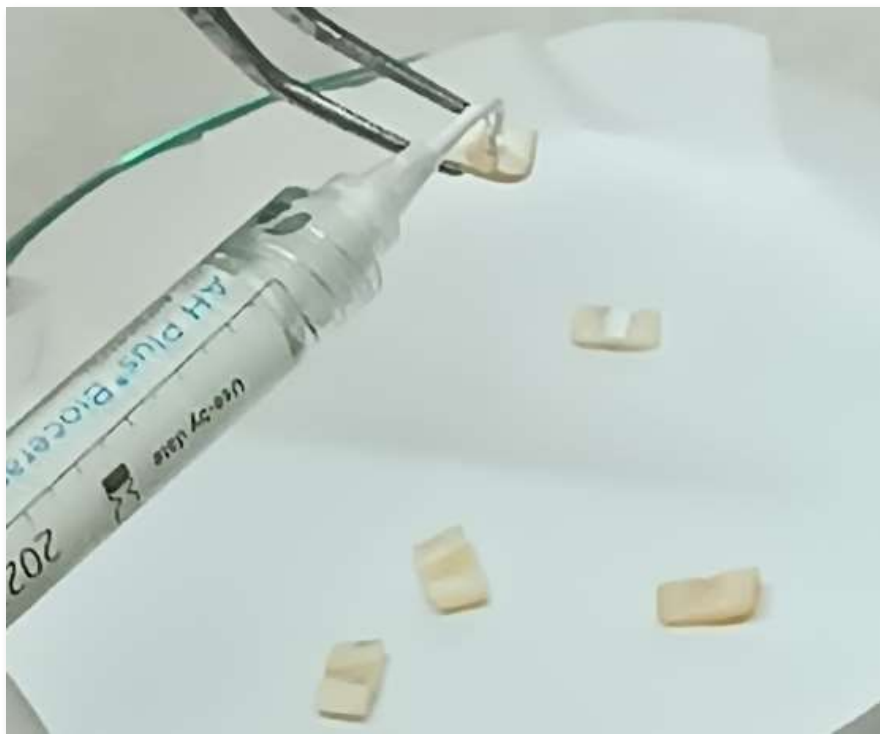


Figura 17. Colocación del cemento sellador endodóntico



Figura 16. Muestras en contacto con los cementos en humedad relativa

#### 5.7.4 Cuarta fase: Determinación de carga bacteriana mediante UFC y tinción Alamar Blue

Una vez transcurrido el tiempo de incubación (3 y 7 días) en que las muestras fueron expuestas a los cementos endodónticos, se extrajeron de la humedad relativa e introdujeron en tubos de ensayo con caldo BHI, para después ser llevados a la incubadora a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , por 24 horas para determinar su carga bacteriana. Pasadas las 24 horas se retiraron de la incubadora y se procedió a hacer diluciones de la  $10^{-1}$  -  $10^{-9}$ .

Primeramente, se colocaron 9 tubos de ensayo con 9 ml de solución salina, al primer tubo de ensayo se le añadió 1000 µl de caldo puro contenido con las muestras, y de ese tubo se retiró 1000 µl y se llevó al siguiente tubo con solución salina, y así sucesivamente hasta llegar a la dilución  $10^{-9}$ . Posteriormente se realiza el sembrado en placas de agar BHI por 24 horas para el conteo de UFC. Se realizó el conteo de UFC en la dilución que contenga de 30-300 UFC. sobre un contador de colonias al que se le adaptó una cuadrícula de 10x10cm, dividida en cuadrantes de 1x1 cm cada uno y mediante el uso de un contador de colonias en forma de lápiz, con pantalla digital (Scienceware Colony Counter, Bel-Art Products, USA), se calculó el número de UFC por placa. Para realizar el análisis estadístico se hizo la conversión del número de colonias por mililitro, según la siguiente fórmula: **# de colonias en placa X factor de dilución/ 0,1ml = # de colonias por mililitro**

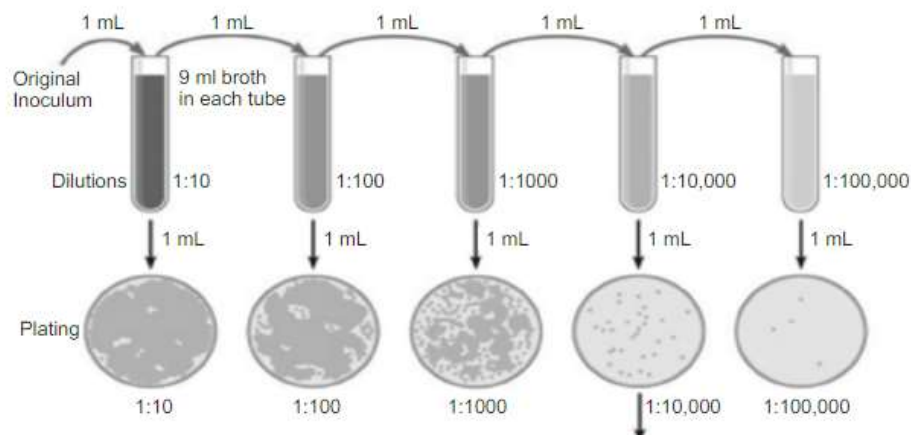


Figura 18. Cálculo del número de colonias en las placas: dilución recíproca de la muestra = número de bacterias / ml. Derechos reservados 2006 Pearson Education Inc. Publishing as Benjamin Cummings.



Figura 19. Diluciones  $10^{-1}$ - $10^{-9}$  y Sembrado de *Enterococcus faecalis*



Figura 20. Conteo de UFC

### Tinción Alamar Blue

Alamar Blue es una solución lista para usar, no tóxica, a base de resazurina que funciona como indicador para medir cuantitativamente la viabilidad. El ingrediente activo de Alamar Blue (resazurina) es un compuesto no tóxico permeable a las células, de color azul y prácticamente no fluorescente. Es un ensayo de microplaca recomendado en casos de estudios de viabilidad prolongados o cuando se utiliza una alta densidad celular. Aplicable a una amplia variedad de células de mamíferos, bacterias, plantas y hongos.

Para el estudio mediante la tinción Alamar Blue, de los tubos utilizados para realizar el conteo de UFC, se tomaron 100 microlitros y en una placa de 96 pocillos se colocaron estos 100  $\mu$ L del caldo, realizando esta por triplicado por cada una de las muestras. Posteriormente se le agregan 10  $\mu$ L de la tinción alamar blue. La placa se colocó en la incubadora por 3 horas y de allí se llevó a leer en el espectrómetro (Thermo Scientific. Multiskan FC) para medir la absorbancia.



Figura 21. Colocando la tinción Alamar Blue



Figura 22. Lectura de la tinción Alamar Blue, mediante Espectrofotómetro

### 5.7.5 Quinta fase: Observación de los discos de dentina al microscopio electrónico de barrido (MEB)

Para la observación de las muestras en el MEB, se tomaron aleatoriamente 5 muestras de cada grupo primero se procedió a fijar por 24 horas las muestras en glutaraldehído+ azul de alciano al 2% a 4°C durante 24 horas. Posteriormente se realiza la deshidratación de alcoholes crecientes desde el 20% hasta llegar a alcohol absoluto, cada uno por 10 minutos. Seguido de esto se les realizó a las muestras el punto crítico, para finalmente ser bañadas por oro y ser llevadas a observación del MEB en aumentos de 2 000 y 4 000 x. Por último, se les retiró el sellador a las muestras con la ayuda de una hoja de bisturí #15 y se prepararon nuevamente para ser observadas en los mismos aumentos.



Figura 23. Microscopio Electrónico de Barrido (Jeol, JSM-6510)

## **6 RESULTADOS**

### **6.1 Fase antimicrobiana mediante el conteo UFC, tinción Alamar Blue y microscopio electrónico de barrido**

La evaluación de la actividad antimicrobiana de los diferentes selladores endodónticos se realizó mediante el conteo de UFC, la tinción Alamar Blue y observación al microscopio electrónico de barrido.

Todas las mediciones son representadas mediante estadística descriptiva, utilizando gráficas y tablas.

### **6.2 Conteo de UFC**

Al evaluar el conteo de UFC de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico, hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en todos los grupos, siendo más marcada esta diferencia en el grupo CeraSeal a los 7 días (GA2)

En las Figuras 24, 25 y en la Gráfica 1, se muestra la capacidad antimicrobiana de los selladores endodónticos de acuerdo a la cantidad de bacterias por mililitro presentes después de realizar el estudio mediante discos de dentina en cultivo convencional, observando una mayor capacidad antimicrobiana del sellador CeraSeal a los 7 días (GA2), con diferencia estadísticamente significativa de ( $p < 0.01$ ) sobre los grupos A1, B1 y B2.

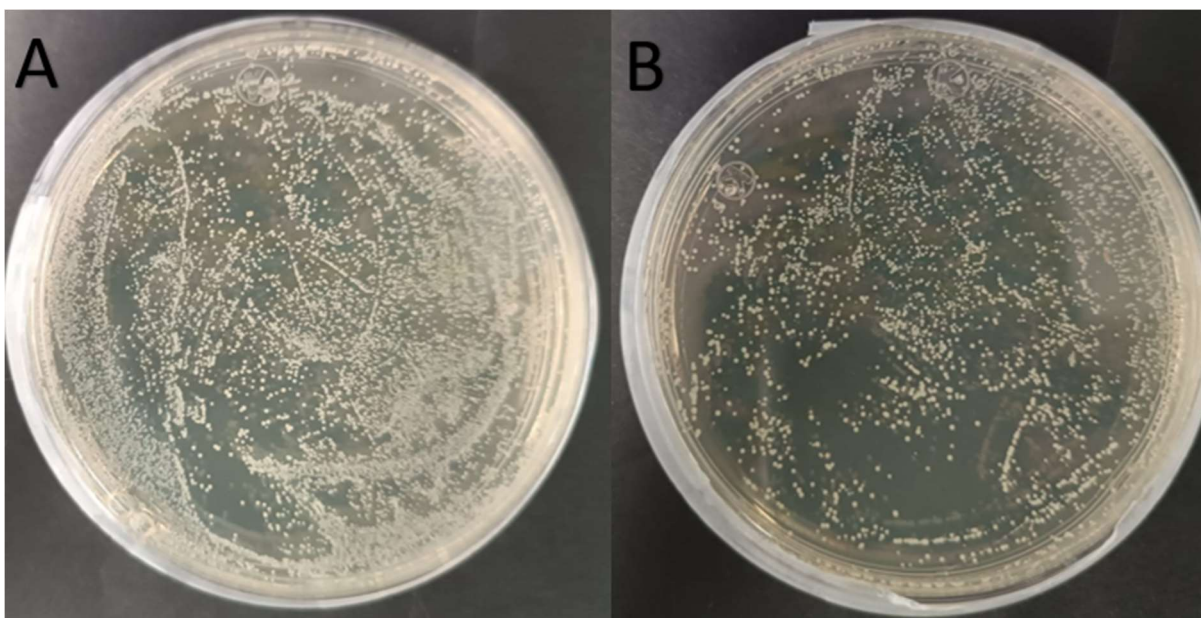


Figura 24. UFC presentes en placas de Agar BHI transcurridos 3 (A) y 7 días (B) con el sellador CeraSeal.

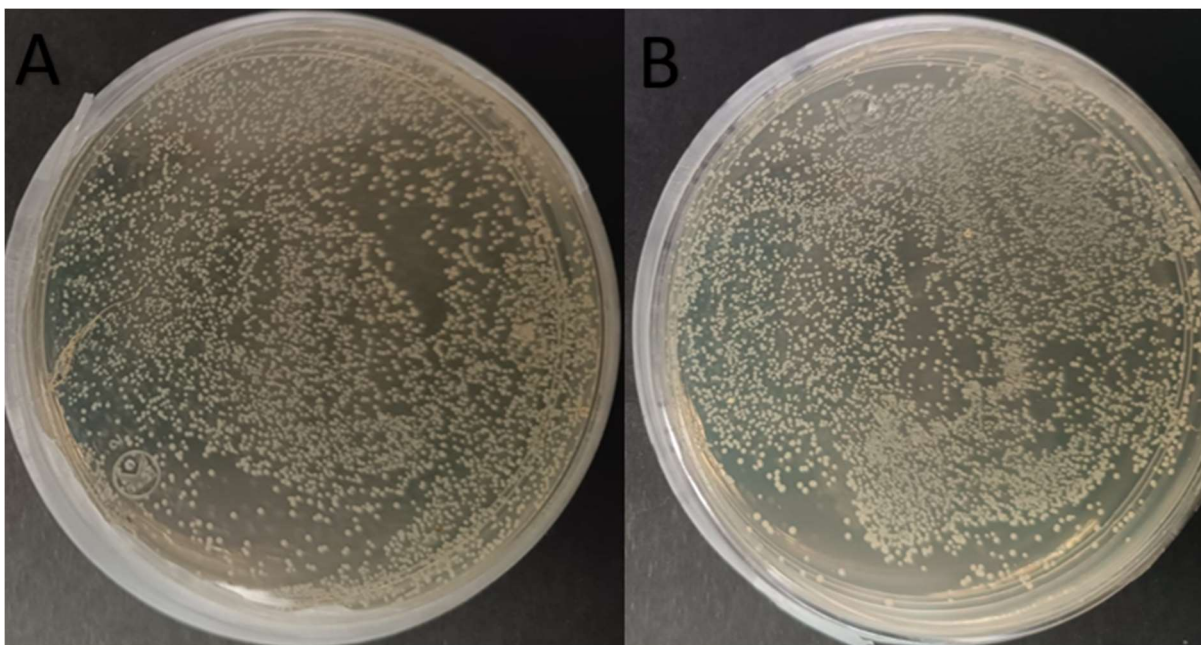
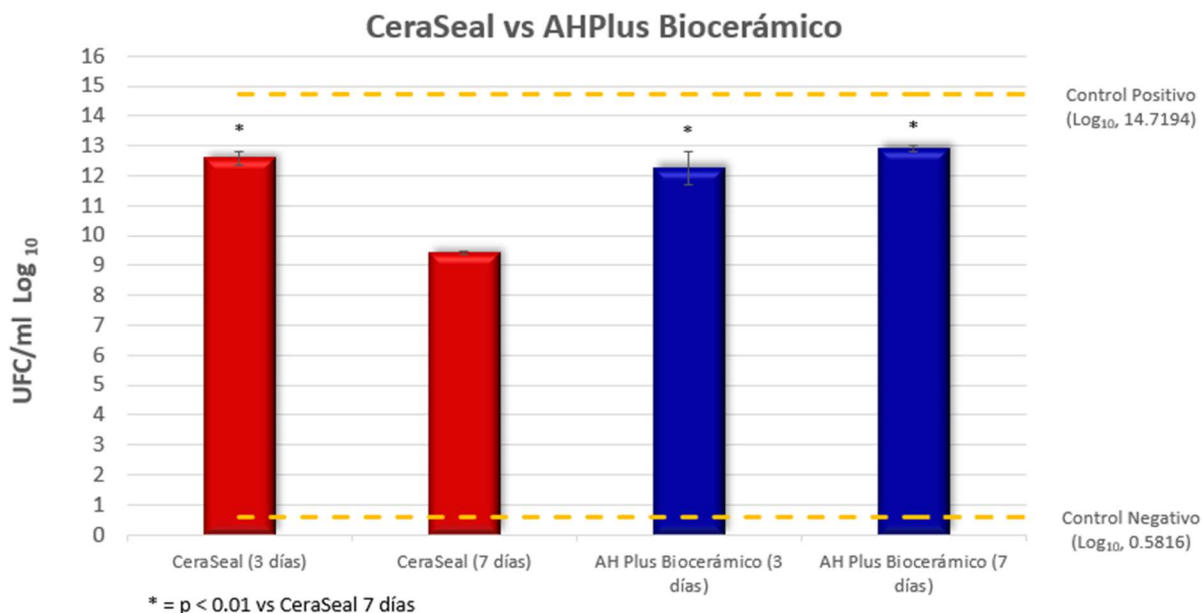


Figura 25. UFC presentes en placas de Agar BHI transcurridos 3 (A) y 7 días (B) con el sellador AH Plus Biocerámico.



Gráfica 1. Comparación de la capacidad antimicrobiana de selladores biocerámicos CeraSeal (CS) y AH Plus Biocerámico (AHPB) a diferentes tiempos de incubación mediante Log<sub>10</sub> UFC/mL.

| Resultados (Muestras 3 días) |          |         |          |                    |          |         |          |
|------------------------------|----------|---------|----------|--------------------|----------|---------|----------|
| CeraSeal                     |          |         |          | AHPlus Biocerámico |          |         |          |
| Muestra                      | UFC/ml   | Muestra | UFC/ml   | Muestra            | UFC/ml   | Muestra | UFC/ml   |
| 1                            | 4.90E+12 | 16      | 3.00E+12 | 1                  | 6.40E+12 | 16      | 6.40E+12 |
| 2                            | 3.00E+12 | 17      | 2.10E+12 | 2                  | 6.80E+12 | 17      | 3.40E+11 |
| 3                            | 4.90E+12 | 18      | 5.80E+12 | 3                  | 5.30E+11 | 18      | 5.20E+12 |
| 4                            | 2.10E+12 | 19      | 4.70E+12 | 4                  | 5.20E+12 | 19      | 5.30E+11 |
| 5                            | 4.70E+12 | 20      | 3.00E+12 | 5                  | 3.40E+11 | 20      | 5.30E+11 |
| 6                            | 4.80E+12 | 21      | 6.00E+12 | 6                  | 8.00E+11 | 21      | 8.00E+11 |
| 7                            | 4.90E+12 | 22      | 5.80E+12 | 7                  | 5.20E+12 | 22      | 6.40E+12 |
| 8                            | 6.00E+12 | 23      | 6.00E+12 | 8                  | 6.40E+12 | 23      | 3.40E+11 |
| 9                            | 2.10E+12 | 24      | 3.00E+12 | 9                  | 3.40E+11 | 24      | 5.30E+11 |
| 10                           | 4.90E+12 | 25      | 4.70E+11 | 10                 | 5.30E+11 | 25      | 6.80E+12 |
| 11                           | 3.00E+12 | 26      | 5.80E+12 | 11                 | 6.80E+12 | 26      | 5.20E+12 |
| 12                           | 6.00E+12 | 27      | 4.70E+12 | 12                 | 8.00E+11 | 27      | 8.00E+11 |
| 13                           | 4.90E+12 | 28      | 2.10E+12 | 13                 | 3.40E+11 | 28      | 6.80E+12 |
| 14                           | 6.00E+12 | 29      | 5.80E+12 | 14                 | 5.20E+12 | 29      | 8.00E+11 |
| 15                           | 5.80E+12 | 30      | 2.10E+12 | 15                 | 6.80E+12 | 30      | 6.40E+12 |

Tabla 4. Resultados de las unidades formadoras de colonias por ml de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 3 días de incubación.

| Resultados (Muestras 7 días) |          |    |          |                    |          |    |          |
|------------------------------|----------|----|----------|--------------------|----------|----|----------|
| CeraSeal                     |          |    |          | AHPlus Biocerámico |          |    |          |
| Muestra                      | UFC/ml   |    | UFC/ml   | Muestra            |          |    | UFC/ml   |
| 1                            | 2.54E+09 | 16 | 3.09E+09 | 1                  | 5.50E+12 | 16 | 7.60E+12 |
| 2                            | 2.50E+09 | 17 | 2.50E+09 | 2                  | 7.60E+12 | 17 | 6.80E+12 |
| 3                            | 2.45E+09 | 18 | 2.45E+09 | 3                  | 9.80E+12 | 18 | 1.08E+13 |
| 4                            | 2.48E+09 | 19 | 2.48E+09 | 4                  | 1.08E+13 | 19 | 9.80E+12 |
| 5                            | 3.09E+09 | 20 | 2.48E+09 | 5                  | 5.50E+12 | 20 | 6.80E+12 |
| 6                            | 2.48E+09 | 21 | 3.09E+09 | 6                  | 9.80E+12 | 21 | 5.50E+12 |
| 7                            | 2.50E+09 | 22 | 2.48E+09 | 7                  | 1.08E+13 | 22 | 9.20E+12 |
| 8                            | 2.48E+09 | 23 | 2.50E+09 | 8                  | 7.60E+12 | 23 | 1.08E+13 |
| 9                            | 2.48E+09 | 24 | 2.48E+09 | 9                  | 9.20E+12 | 24 | 7.60E+12 |
| 10                           | 2.50E+09 | 25 | 3.09E+09 | 10                 | 5.50E+12 | 25 | 6.80E+12 |
| 11                           | 2.45E+09 | 26 | 2.45E+09 | 11                 | 9.20E+12 | 26 | 9.80E+12 |
| 12                           | 3.09E+09 | 27 | 2.50E+09 | 12                 | 1.08E+13 | 27 | 6.80E+12 |
| 13                           | 2.54E+09 | 28 | 2.45E+09 | 13                 | 9.80E+12 | 28 | 5.50E+12 |
| 14                           | 3.09E+09 | 29 | 2.48E+09 | 14                 | 6.80E+12 | 29 | 9.20E+12 |
| 15                           | 3.09E+09 | 30 | 2.50E+09 | 15                 | 9.20E+12 | 30 | 7.60E+12 |

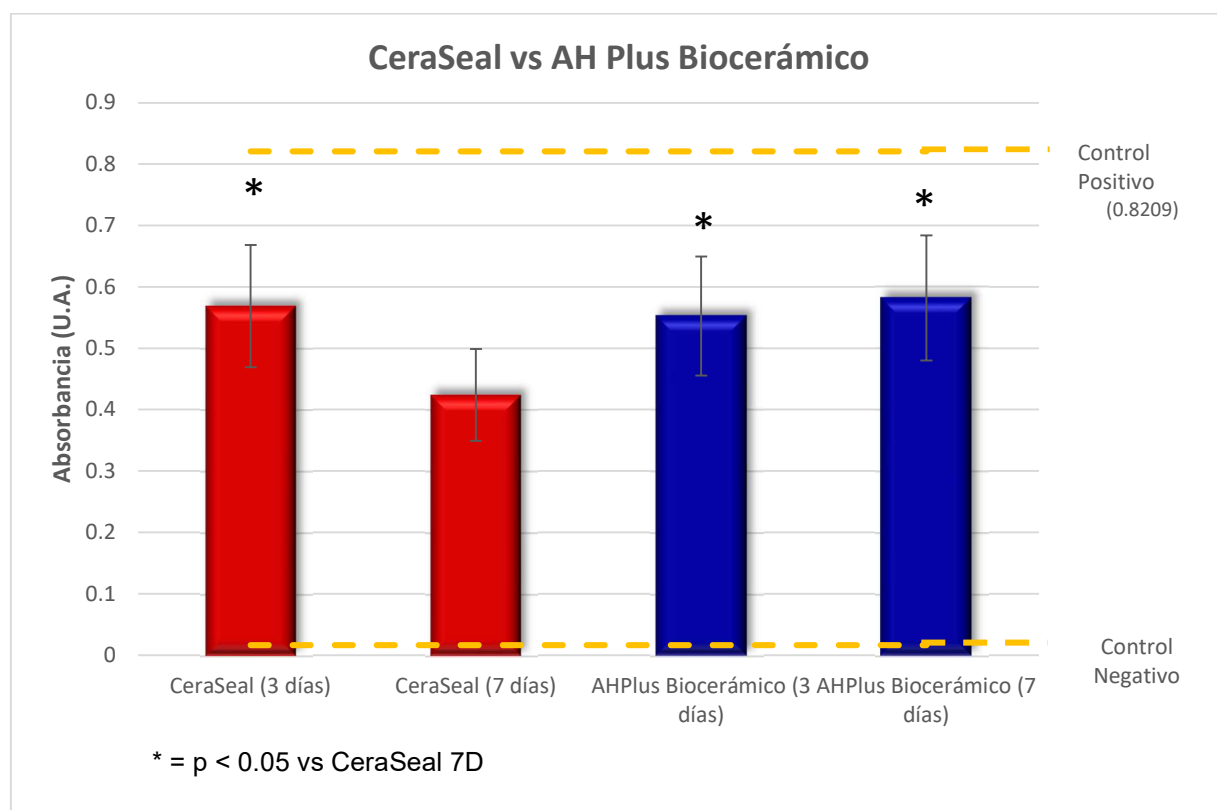
Tabla 5. Resultados de las unidades formadoras de colonias por ml de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 7 días de incubación.

| Sellador           | Incubación (días) | Promedio (UFC/ml) | DS          | Lím. Superior (UFC/ml) | Lím. Inferior (UFC/ml) |
|--------------------|-------------------|-------------------|-------------|------------------------|------------------------|
| CeraSeal           | 3                 | 4.28E+12          | 1.6139E+12  | 6.00E+12               | 4.70E+11               |
|                    | 7                 | 2.63E+09          | 2.61E+08    | 3.09E+09               | 2.45E+09               |
| AHPlus Biocerámico | 3                 | 3.35E+12          | 2.88104E+12 | 6.80E+12               | 3.40E+11               |
|                    | 7                 | 8.28E+12          | 2.69001E+12 | 6.80E+12               | 2.45E+09               |

Tabla 6. Resultados de los promedios, desviación estándar y límite superior e inferior de las unidades formadoras de colonias por mililitro de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 3 y 7 días de incubación.

### 6.3 Tinción Alamar Blue

En la gráfica 2 se observa que las muestras evaluadas con la tinción Alamar Blue, presentan una diferencia significativa de  $p < 0,01$ , demostrando un incremento de la capacidad antimicrobiana del cemento sellador CeraSeal a los 7 días (GA2), mientras que a los 3 días sucedió lo contrario, dándose una mayor viabilidad bacteriana. En tanto que el sellador AH Plus Biocerámico a los 3 y 7 días no presentó diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la eliminación bacteriana.



Gráfica 2. Comparación de la capacidad antimicrobiana de selladores biocerámicos CeraSeal (CS) y AH Plus Biocerámico (AHPB) a diferentes tiempos de incubación mediante tinción Alamar Blue.

| Resultados (Muestras 3 días) |             |         |             |                    |             |         |             |
|------------------------------|-------------|---------|-------------|--------------------|-------------|---------|-------------|
| CeraSeal                     |             |         |             | AHPlus Biocerámico |             |         |             |
| Muestra                      | Absorbancia | Muestra | Absorbancia | Muestra            | Absorbancia | Muestra | Absorbancia |
| 1                            | 0.5571      | 10      | 0.5717      | 1                  | 0.5412      | 10      | 0.5555      |
| 2                            | 0.5555      | 11      | 0.5773      | 2                  | 0.5397      | 11      | 0.5609      |
| 3                            | 0.6303      | 12      | 0.6435      | 3                  | 0.6124      | 12      | 0.6252      |
| 4                            | 0.7048      | 13      | 0.5046      | 4                  | 0.6848      | 13      | 0.4903      |
| 5                            | 0.6815      | 14      | 0.5207      | 5                  | 0.6621      | 14      | 0.5059      |
| 6                            | 0.6083      | 15      | 0.5819      | 6                  | 0.5910      | 15      | 0.5654      |
| 7                            | 0.6541      | 16      | 0.3585      | 7                  | 0.6355      | 16      | 0.3483      |
| 8                            | 0.7103      | 17      | 0.5369      | 8                  | 0.6901      | 17      | 0.5216      |
| 9                            | 0.4570      | 18      | 0.3823      | 9                  | 0.4440      | 18      | 0.3714      |

Tabla 7. Resultado de la absorbancia de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 3 días mediante la tinción Alamar Blue.

| Resultados (Muestras 7 días) |             |         |             |                    |             |         |             |
|------------------------------|-------------|---------|-------------|--------------------|-------------|---------|-------------|
| CeraSeal                     |             |         |             | AHPlus Biocerámico |             |         |             |
| Muestra                      | Absorbancia | Muestra | Absorbancia | Muestra            | Absorbancia | Muestra | Absorbancia |
| 1                            | 0.4154      | 10      | 0.4263      | 1                  | 0.5701      | 10      | 0.5851      |
| 2                            | 0.4142      | 11      | 0.4305      | 2                  | 0.5685      | 11      | 0.5908      |
| 3                            | 0.4702      | 12      | 0.4801      | 3                  | 0.6451      | 12      | 0.6586      |
| 4                            | 0.5260      | 13      | 0.3761      | 4                  | 0.7213      | 13      | 0.5165      |
| 5                            | 0.5085      | 14      | 0.3882      | 5                  | 0.6974      | 14      | 0.5329      |
| 6                            | 0.4537      | 15      | 0.4340      | 6                  | 0.6225      | 15      | 0.5956      |
| 7                            | 0.4880      | 16      | 0.2668      | 7                  | 0.6694      | 16      | 0.3669      |
| 8                            | 0.5301      | 17      | 0.4003      | 8                  | 0.7269      | 17      | 0.5494      |
| 9                            | 0.3405      | 18      | 0.2846      | 9                  | 0.4677      | 18      | 0.3912      |

Tabla 8. Resultado de la absorbancia de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 7 días mediante la tinción Alamar Blue.

| Sellador                  | Incubación (días) | Promedio Absorbancia | DS     | Lím. Superior Absorbancia | Lím. Inferior Absorbancia |
|---------------------------|-------------------|----------------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| <b>CeraSeal</b>           | 3                 | 0.5687               | 0.0997 | 0.7103                    | 0.3585                    |
|                           | 7                 | 0.4241               | 0.0746 | 0.5301                    | 0.2668                    |
| <b>AHPlus Biocerámico</b> | 3                 | 0.5525               | 0.0969 | 0.6901                    | 0.3483                    |
|                           | 7                 | 0.5820               | 0.1020 | 0.7269                    | 0.3669                    |

Tabla 9. Resultados de los promedios, desviación estándar y límite superior e inferior de la absorbancia de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a los 3 y 7 días de incubación.

## 6.4 Fase Microscópica

Las observaciones en el microscopio electrónico de barrido (MEB) se dieron primeramente evaluando los controles negativo y positivo, para así después ver los diferentes selladores en diversos intervalos de tiempo.

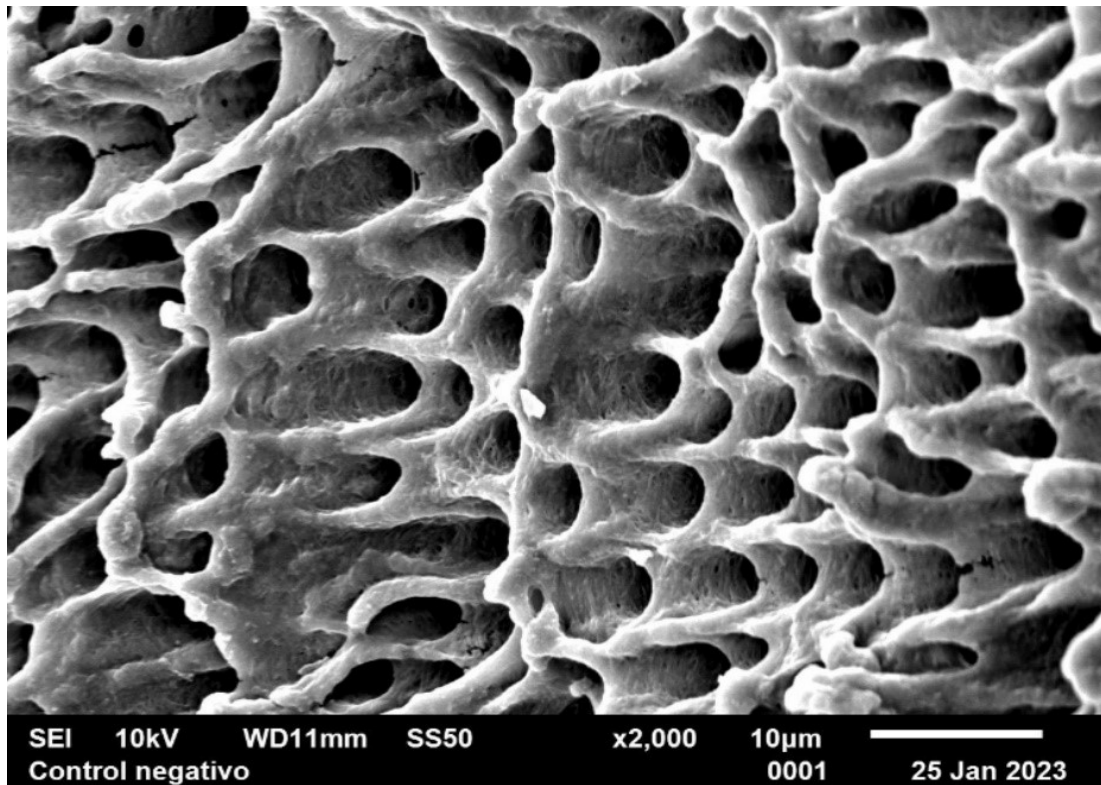


Figura 26. Control negativo del modelo de discos de dentina observado al MEB, en un aumento de 2 000 x

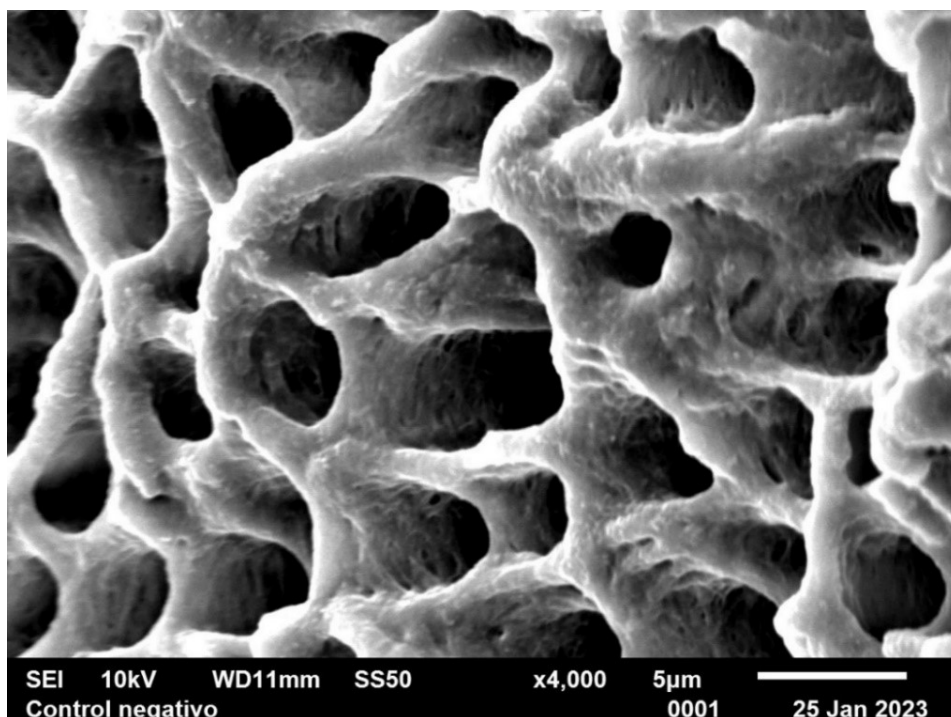


Figura 28. Control negativo del modelo de discos de dentina observado al MEB, en un aumento de 4 000 x

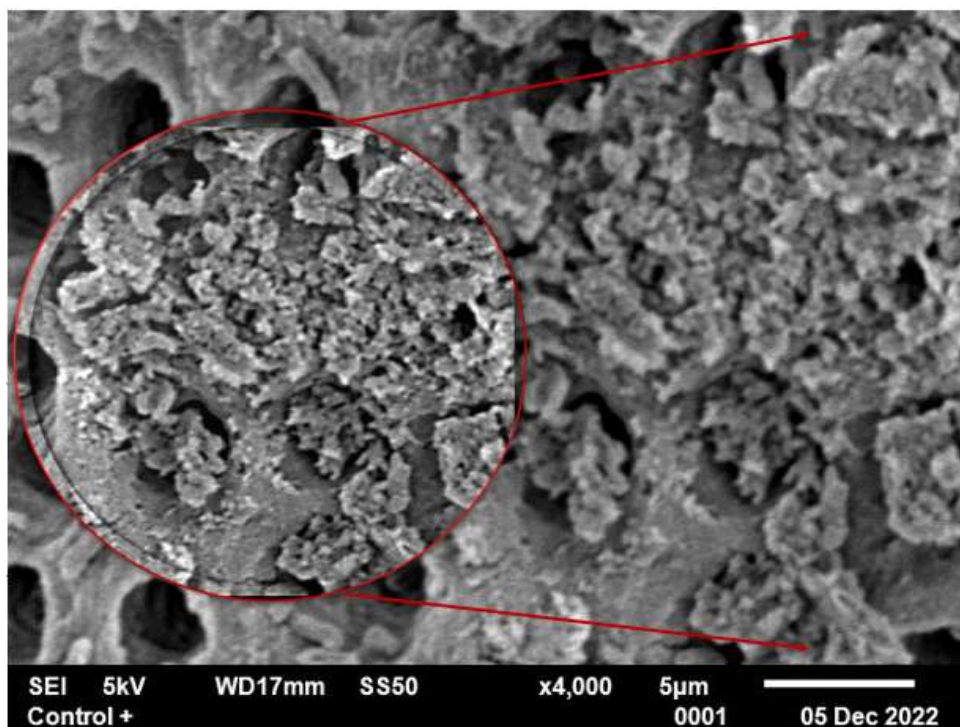


Figura 27. Control positivo del modelo de discos de dentina observado al MEB, en un aumento de 4 000 x.

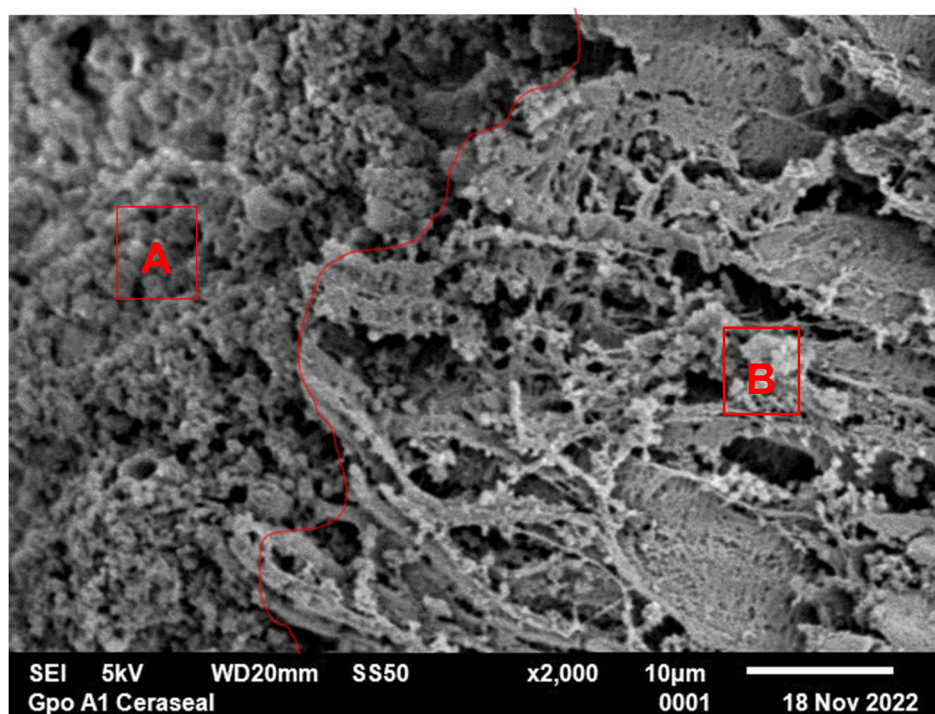


Figura 29. Muestra de estudio donde se observa el biofilm de *Enterococcus faecalis* (A), así como el sellador CeraSeal (B) en un período de incubación de 3 días (grupo A). En aumento de 2 000 x

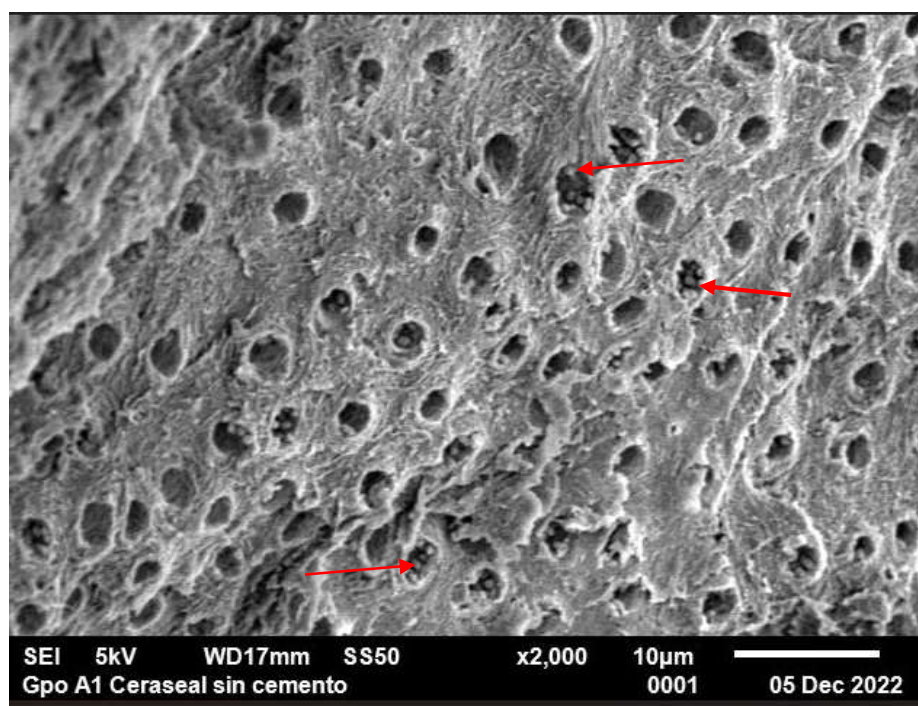


Figura 30. Muestra después de haber sido retirado el sellador CeraSeal a los 3 días de incubación (A1), a un aumento de 2 000 x, se observa la luz de los túbulos dentinarios con crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis*.

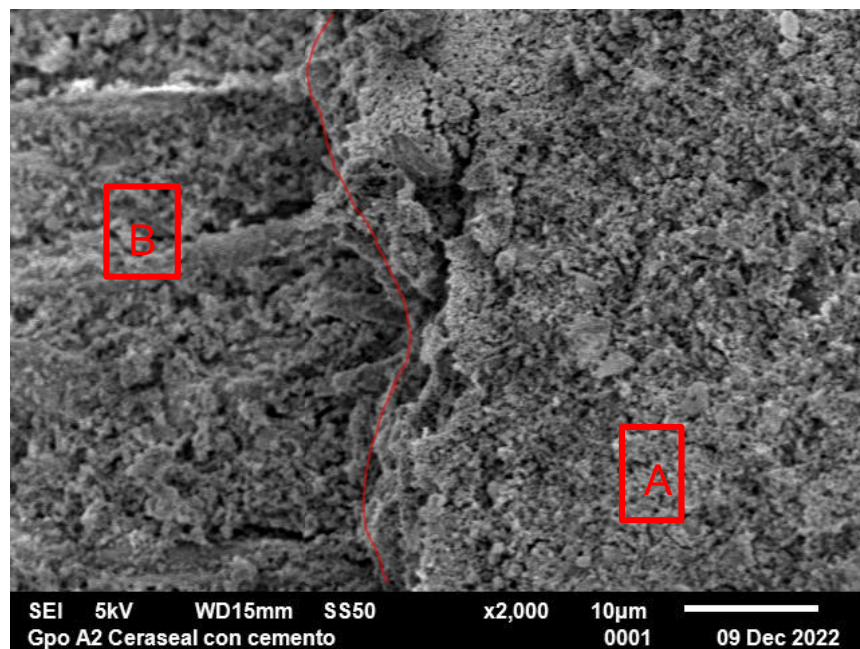


Figura 31. Muestra de estudio donde se observa el biofilm de *Enterococcus faecalis* (A), así como el sellador CeraSeal (B) en un período de incubación de 7 días (grupo A2). En aumento de 2000 x

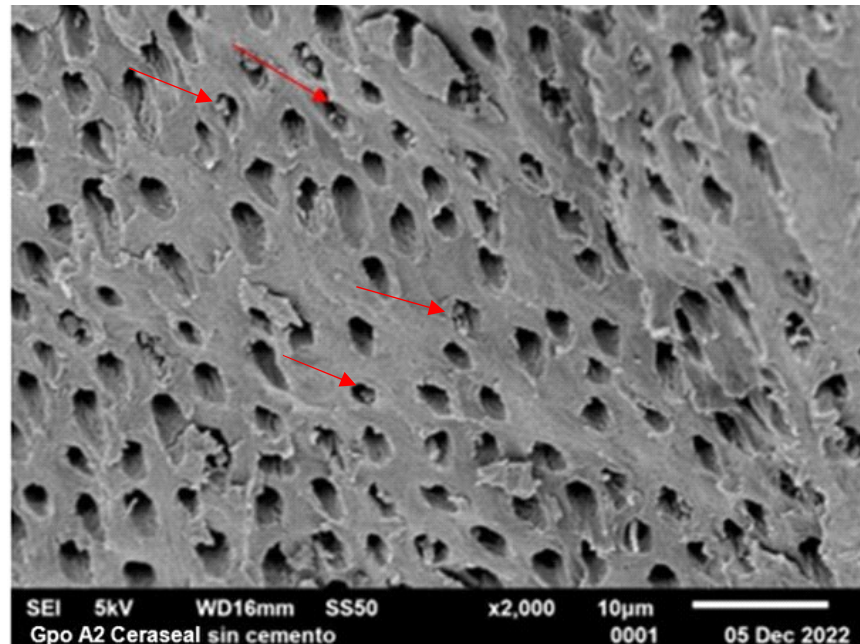


Figura 32. Muestra después de haber sido retirado el sellador CeraSeal a los 7 días de incubación (A1), a un aumento de 2 000 x, se observa la luz de los túbulos dentinarios con crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis*.

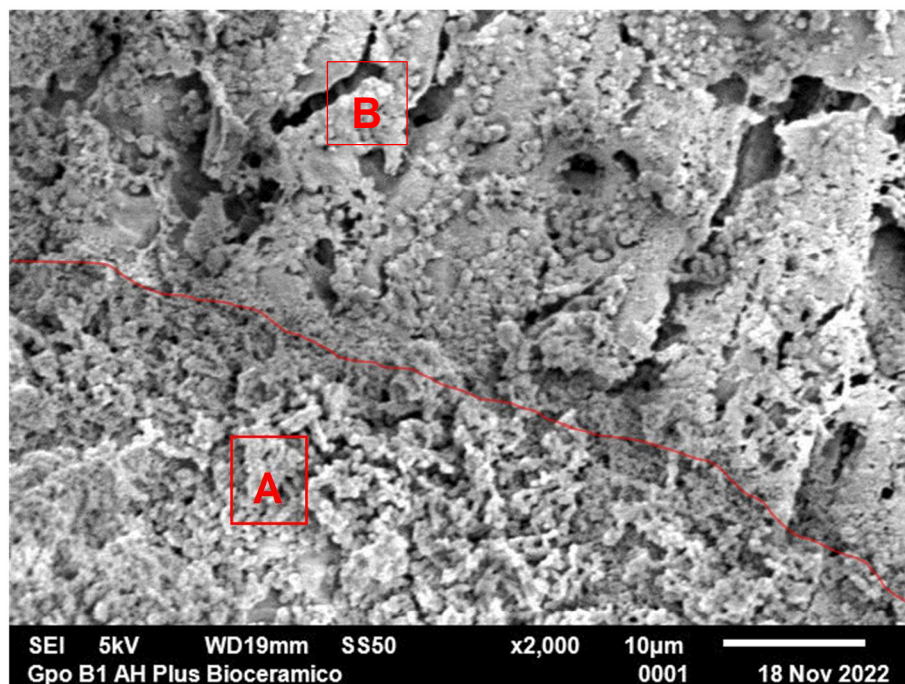


Figura 33. Muestra de estudio donde se observa el biofilm de *Enterococcus faecalis* (A), así como el sellador AH-Plus Biocerámico (B) en un período de incubación de 3 días (grupo B1). En aumento de 2 000 x.

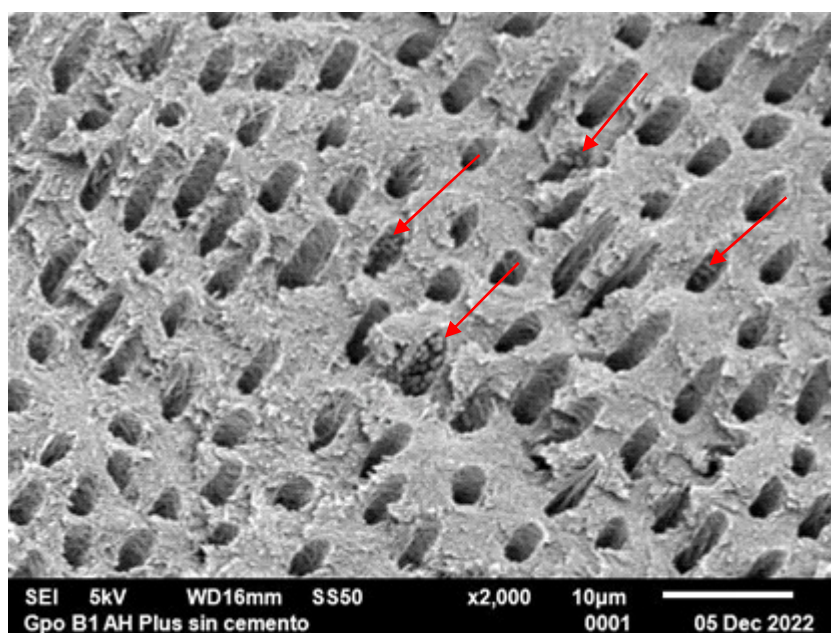


Figura 34. Muestra después de haber sido retirado el sellador AH Plus Biocerámico a los 3 días de incubación (B1), a un aumento de 2 000 x

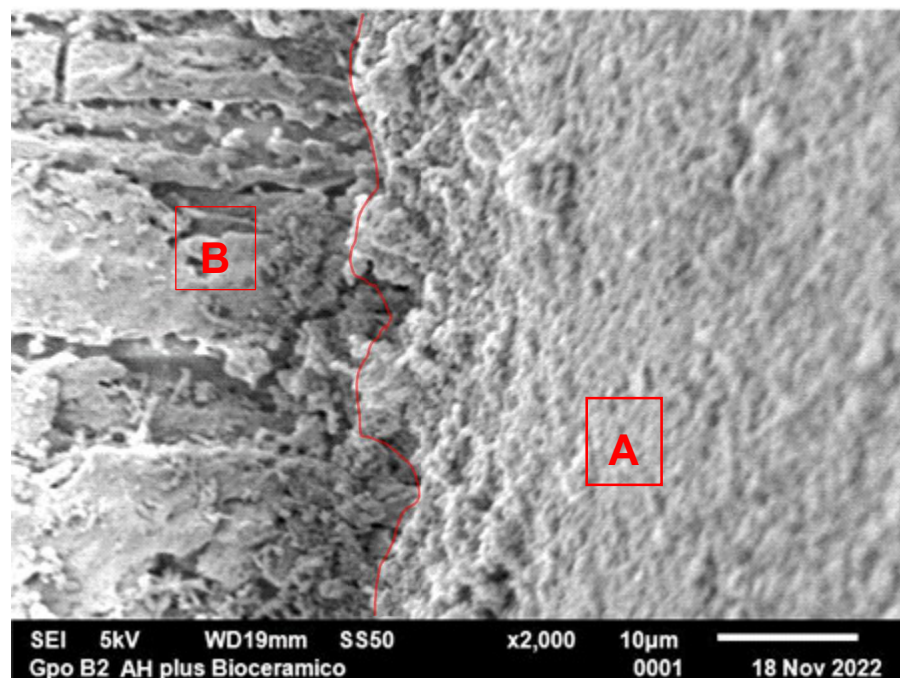


Figura 35. Muestra de estudio donde se observa el biofilm de *Enterococcus faecalis* (A), así como el sellador AH Plus Biocerámico (B) en un período de incubación de 7 días (grupo B2). En aumento de 2 000 x.

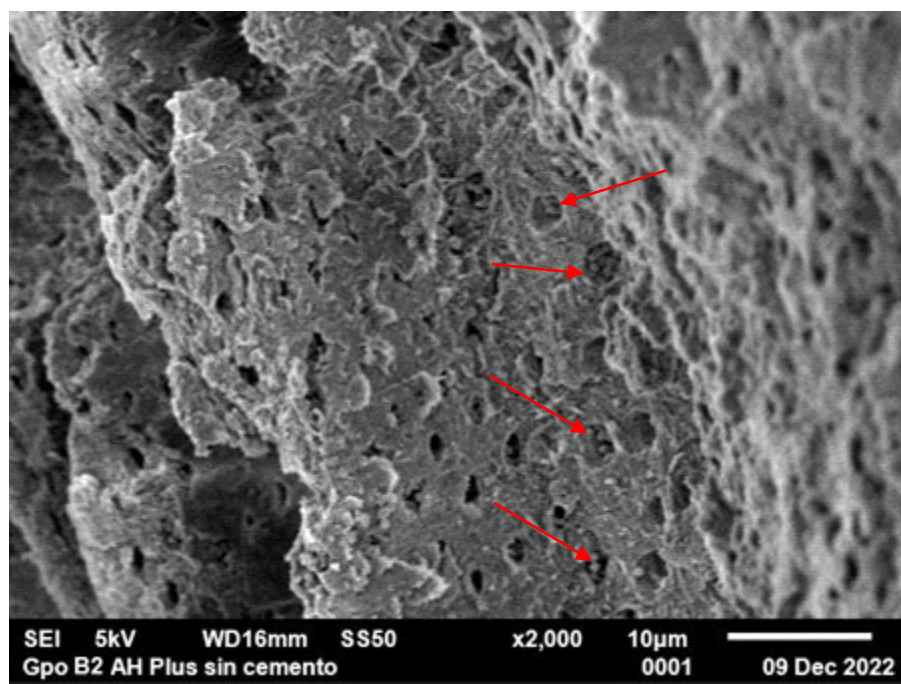


Figura 36. Muestra después de haber sido retirado el sellador AH Plus Biocerámico a los 7 días de incubación (B2), a un aumento de 2 000 x.

## 7 DISCUSIÓN

El sellador endodóntico es uno de los materiales empleados en la obturación del sistema de conductos radiculares, el cual consta de una pasta fina que funciona como agente de unión entre la pared de la dentina radicular y la gutapercha, permitiendo obturar los conductos accesorios, laterales y penetrar dentro de los túbulos dentinarios, contribuyendo al éxito del tratamiento endodóntico. (27)

Dentro de los selladores endodónticos se puede encontrar varios tipos, como aquellos a base de óxido de zinc-eugenol, ionómero de vidrio, silicona, resina, hidróxido de calcio y los silicatos de calcio (biocerámicos), los cuales han sido clasificados de acuerdo a su composición química. En las últimas décadas los selladores biocerámicos han sido utilizados, debido a su biocompatibilidad, no tóxicos, no se contraen y a que son químicamente estables en el entorno biológico. Al momento del fraguado se dan diversas múltiples reacciones, que le proveen diversas propiedades como; capacidad de formar hidroxiapatita, pH alcalino lo que le confiriéndole el efecto antimicrobiano y formación de una capa mineral con las paredes de la dentina creando una unión entre la dentina y el material de obturación proporcionando un sellado hermético, evitando la proliferación microbiana. (23,28) Sin embargo microorganismos como *Enterococcus faecalis* ha sido reportado en la literatura con la mayor prevalencia en las infecciones endodónticas secundarias, esto gracias a que puede soportar largos periodos de inanición, altas temperaturas, y crecer en presencia o no de oxígeno, así como su capacidad de formar biopelículas, por lo que es un microorganismo de estudio al momento de evaluar la capacidad antimicrobiana de selladores endodónticos. (29,30)

La capacidad antimicrobiana de los selladores endodónticos es una de las propiedades importantes al momento de elegir el material de obturación más adecuado, por lo cual ha sido muy estudiada a través de los años. Cabe destacar que los estudios han sido dirigidos al efecto antimicrobiano en bacterias en estado planctónico, (31) como el estudio realizado por Munitic Marija et al. en el 2022 sobre la eficacia antibacteriana

de los selladores biocerámicos y resinosos contra *Enterococcus faecalis* en diferentes tiempos de contacto y fraguado, evaluando

la eficacia antimicrobiana de los selladores TotalFill, BioRoot, Root Canal Sealer, agregado de trióxido mineral (MTA) Fillapex y AH Plus, mediante contacto directo y los resultados los selladores de conductos radiculares biocerámicos mostraron una eficacia estadísticamente significativa que el grupo control y el sellador de resina epoxi, seguido de MTA Fillapex. Todos los selladores exhibieron la mayor eficacia después de 20 minutos de tiempo de contacto, independientemente si los materiales estaban recién mezclados y ya fraguados durante 1 o 3 días.(32),

Candeiro G.*et al.* en el 2016 realizó un estudio donde se evaluó la eficacia antibacteriana del EndoSequence BC Sealer vs. AH Plus contra el *Enterococcus faecalis* utilizando las pruebas de difusión en agar y una prueba de contacto directo. En la prueba de contacto directo, el sellador AH Plus eliminó completamente al *Enterococcus faecalis* después de 1 h, mientras que el sellador EndoSequence BC Sealer presentó mayor actividad antibacteriana después de 24 horas de contacto directo no presentando diferencias significativas entre los selladores experimentales solo en el análisis de 1 hora. En la prueba de difusión en agar, el diámetro de inhibición del sellador AH Plus fue significativamente mayor, comparado con el sellador EndoSequence BC.(33) Sin embargo, actualmente los resultados de la prueba de difusión en agar son cuestionables, debido a la posible influencia de la capacidad de difusión del material en agar, ya que no existe una estandarización de los materiales en estudio, medio de cultivo adecuado, la viscosidad del agar, las condiciones de almacenamiento de las placas y la dependencia de las características de solubilidad y difusión del material de prueba además que las interacciones químicas entre los medios y los agentes desinfectantes son en gran parte desconocidas, debido a que la placa de agar puede determinar el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento, no la eficacia antimicrobiana del desinfectante, por lo que se puede producir resultados falsos positivos. (34, y el medio de cultiv 35) De esta manera, para poder utilizar este método solo se puede conde difusión en agar materiales solubles en agua. Por este motivo la difusión en agar no es la prueba más recomendada para evaluar la actividad

antimicrobiana de los selladores endodónticos. Existe otra prueba como es la de contacto directo, la cual tiene varias ventajas, ya que es, reproducible la dosificación cuantitativa y, además, la reproducción del contacto directo entre los selladores endodónticos dentro del sistema de conductos radiculares. En otro estudio Chávez De Sousa et al. en el 2023 analizaron el efecto antimicrobiano de selladores biocerámicos AH Plus Biocerámico, EndoSequence BC Sealer y el sellador resinoso AH Plus, sobre bacterias planctónicas uno de el mediante la prueba de contacto directo, donde todos los selladores eliminaron completamente la carga bacteriana después de 24 horas, es importante destacar que estos resultados pueden ser cuestionables, debido a que no se asemeja al entorno clínico.(36) De esta manera en estos dos últimos métodos es difícil comparar sus resultados, incluso si estas variables se controlaran cuidadosamente. También hay que tomar en cuenta otra de las de estos métodos que no considera varios factores en el entorno experimental, como la química del diente y la formación de biopelículas. Ya que las bacterias en estado plantónico son más lábiles por lo que resulta más fácil eliminarlas, mientras que las bacterias en biofilm están adheridas o asociadas a una superficiepolimérica, confiriéndole mayor resistencia ante los agentes antimicrobianos. (37) Upadya M. et al en el 2010, menciona que la resistencia se amplifica más de mil veces para los microorganismos en el modo de crecimiento de bioopelícula, en comparación con las células planctónicas; ya que la estructura del biofilm restringe la penetración de los agentes antimicrobianos por lo tanto presenta una subpoblación de células supervivientes especializadas conocidas como persistentes(4,38).

Por lo que en el presente estudio al utilizar el modelo de discos de dentina con formación de biofilm maduro de 2 semanas de *Enterococcus faecalis*, con recambios al cultivo bacteriano cada 48 horas, verificando la viabilidad bacteriana mediante tinciones de Gram, y realizar el conteo de UFC, se tuvo se asemeja más aproximacional entorno clínico de las infecciones endodónticas, en donde las bacterias son mayormente resistentes, siendo difíciles de eliminar mediante la instrumentación e irrigación y también que al momento de reproducirlo el estudio puede ser más preciso. (36,39)

Matej Rosa *et al.* en el 2022, realizó un estudio sobre la actividad antibacteriana a corto plazo de tres selladores endodónticos; a base de óxido de zinc y eugenol Endomethasone N, a base de resina ADSeal y el biocerámico BioRoot RSC contra un biofilm de *Enterococcus faecalis* de 14 días utilizando el modelo de discos de dentina. En este estudio se utilizaron incisivos bovinos que se fijaron en yeso, para después ser seccionado a 2 mm por debajo de la unión CE, obteniendo 10 mm de largo aprox. Los conductos radiculares se ensacharon con fresas Gate Glidden #1-6 y se realizó la técnica de Haapasalo, para luego secar el conducto con puntas de papel y se recubrió las paredes externas con adhesivo single Bond (3M) para evitar el ingreso de bacterias. Para la infección bacteriana los bloques de dentina se colocaron en tubos de ensayo con suspensión bacteriana de *Enterococcus faecalis* por un periodo de 14 días, realizando recambios cada 24 horas. Al colocar los selladores se utilizó una gutapercha para dispersar uniformemente el sellador, con la cual se obturó, y al cortar la gutapercha se selló la entrada del conducto con adhesivo single Bond, y se incubaron por 24 horas. Transcurrido este tiempo se procedió a desobturar con la ayuda de una lima Hedstrom #80 y fresas Pesso #5, al obtener los restos de la desobturación se colocaron en tubos de ensayo con solución salina y solución estéril para después ser sembradas en placas de agar Mueller-Hinton y ser cultivadas por 2 horas, transcurrido ese tiempo se realizó el conteo de UFC. En los resultados se reportó que, aunque todos los selladores presentaron diferencias estadísticamente significativas, el BioRoot RCS fue el de mayor efecto antibacteriano evaluado mediante conteo de UFC.(40) A pesar que en este estudio se realizó un biofilm estático en discos de dentina, hay que recalcar la diferencia de lo encontrado en el presente trabajo, que se utilizó sobre dientes humanos, el cual está demostrado por Haapasalo, quién creó el modelo de dentina en bovinos(41) que no es la misma respuesta, ya que los dientes bovinos presentan mayor número de túbulos dentinarios y son de mayor tamaño, por lo que al momento de realizar pruebas sobre todo de cementos los resultados no son el todo confiables a los obtenidos con dientes humanos. (42)En el trabajo de Matej Rosa *et al.* en el 2022 se obturó de forma convencional, y se realizó conteo de UFC a las 2 horas sobre el agar Mueller Hinton, sabiendo que el crecimiento es casi nulo a ese tiempo, a diferencia del presente trabajo que no se obturó, sino que se expuso a

los selladores al biofilm, para después ser colocados a humedad durante 3 y 7 días, esperando que se haya efectuado el fraguado y la acción del sellador sobre el biofilm, se realizó el cultivo en caldo para posteriormente ver el desarrollo y crecimiento bacteriano, para finalmente realizar el conteo de UFC, que a pesar de haber una diferencia significativa en los dos selladores, a los dos tiempos estudiados la diferencia más marcada se presentó a los 7 días para el sellador CeraSeal.

Bukhari Sarah *et al.* en el 2019, investigaron el efecto antimicrobiano del sellador biocerámico EndoSequence BC vs AH Plus contra un biofilm de 8 semanas de maduración mediante el modelo de discos de dentina *in vitro*, teniendo como resultado que EndoSequence BC Sealer fue superior en eliminar *E. faecalis* en comparación con AH Plus, estos resultados de Bukhari coinciden con el presente estudio en que un sellador biocerámico en este caso CeraSeal presenta mayor actividad antimicrobiana, gracias a las reacciones químicas que ocurren durante el fraguado.

Por otra parte, al analizar la diferencia de los resultados del presente estudio entre CeraSeal y AH Plus Biocerámico podría deberse a que el CeraSeal presenta valores de pH elevados durante la reacción de hidratación, y a la mayor liberación de iones hidroxilo, confiriéndole mayor actividad alcalinizante comparado con el AH Plus Biocerámico.(26,43) Para complementar las pruebas adicionales al conteo de UFC, se realizó el análisis por medio de la prueba Alamar Blue y las observaciones al MEB.

En cuanto a la tinción de Alamar blue, como indicador del proceso de oxidación-reducción además de ser rápida y de bajo costo, ya que no requiere instrumentación costosa para determinar el crecimiento bacteriano o proliferación celular. Se evaluó la absorbancia de los selladores CeraSeal y AH Plus Biocerámico a 600 nm a 3 y 7 días concordando con los resultados de las UFC donde el sellador CeraSeal a los 7 días mostró menor absorbancia, indicando menor viabilidad celular, arrojando una diferencia estadísticamente significativa mayor con respecto al AH Plus Biocerámico en los dos tiempos. Existen otros estudios como los realizados por Hsien Huang Tsui *et al.* en el 2012 donde compara la actividad antibacteriana de los materiales de obturación radicular a base de silicato de calcio, MTA blanco, entre otros, en bacterias en estado planctónico utilizando los ensayos de difusión en agar y Alamar blue.(44)

Existen estudios que corroboran la capacidad antimicrobiana de los selladores biocerámicos, como los realizados por Zhang Hui et al. en el 2009 y Haddad A. et al. 2016 donde evaluaron el tiempo de fraguado de selladores endodónticos biocerámicos y a base de hidróxido de calcio, esta y reporta que las reacciones de fraguado contribuyen a la actividad antimicrobiana, ya que la precipitación de hidróxido de calcio durante la reacción de fraguado aumenta el pH junto a la liberación de Calcio. (45) También así Heling y Chandler et. al en 2006 realizó una comparación de los cementos AH Plus, Apexit Plus, iRoot SP, Tubli Seal, Sealapex, Epiphany SE, y EndoRez contra un biofilm de *Enterococcus faecalis* de una semana, mediante el modelo de discos de dentina, donde se obtuvieron resultados que Sealapex tuvo una mayor actividad antimicrobiana a los 7 días que a 1 día después de la mezcla, llegando a la conclusión que los selladores que contienen hidróxido de calcio, durante la reacción de fraguado se da la precipitación de calcio, aumentando su pH ya que se descubrió que un alto pH alcalino y los iones de hidroxilo afectan la membrana celular y la actividad enzimática de los microorganismos, por ende contribuye a la capacidad antimicrobiana. (46) Así lo afirma McHugh en su estudio sobre que pH es necesario para eliminar *Enterococcus faecalis* in vitro, demostrando que un pH alcalino elevado, superior a 11,5, es bactericida para *E. faecalis*. (47)

Los resultados aleatorizados del control negativo que se observaron al MEB muestran tubulillos dentinarios permeables sin presencia de microorganismos, mientras que al analizar el control positivo se observa una estructura densa de microcolonias y algunas asociaciones bacterianas de *Enterococcus faecalis* en la entrada de los túbulillos dentinarios. Al observar las muestras con el sellador colocado se puede ver biofilm de *E. faecalis*, debajo del sellador. Mientras que al evaluar la muestra sin el sellador colocado revela que el biofilm no fue eliminado en su totalidad, lo que ocurrió fue que el sellador actuó sobre las células a las que tenía acceso pero no penetró el interior de los túbulos donde se encontraba el biofilm, por lo tanto es importante señalar que el Ceraseal actúa sobre células planctónicas, por lo que hay que eliminar o disgregar el biofilm para que el sellador pueda tener acceso a las células restantes fuera del biofilm bacteriano. Demostrándose así el papel fundamental del sellador en la

eliminación e inhibición total de las bacterias remanentes después de la limpieza quimiomecánica.

## 8 CONCLUSIONES

Al culminar este trabajo y en base a los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

- Los selladores no penetran el biofilm, actuando principalmente sobre las células expuestas después de la preparación quimiomecánica.
- El sellador AH Plus Biocerámico, presentó actividad antimicrobiana a los 3 días, presentando diferencia significativa en el conteo de UFC y Alamar Blue contrario al de periodo de tiempo del CeraSeal a 7 días.
- El sellador CeraSeal, presentó actividad antimicrobiana a los 7 días, presentando diferencia significativa en conteo de UFC y Alamar Blue en el mismo periodo de tiempo que el AH Plus Biocerámico.
- Las imágenes al MEB muestran que los selladores actúan sobre las bacterias planctónicas, lo cual se corrobora cuando se observaron las muestras después de haber sido colocado los selladores y se ve la presencia de túbulos dentinarios con carga bacteriana.

## 9 PERSPECTIVAS

De acuerdo a los resultados obtenidos se sugiere lo siguiente:

- Evaluar la eficacia antimicrobiana de un grupo más amplio de nuevos biocerámicos, contra un biofilm mixto.
- Evaluar la eficacia antimicrobiana de selladores In vivo, en infecciones primarias y también en infecciones secundarias.

## 10 BIBLIOGRAFÍA

1. Siqueira JF, Pérez AR, Marceliano-Alves MF, Provenzano JC, Silva SG, Pires FR, et al. What happens to unprepared root canal walls: a correlative analysis using micro-computed tomography and histology/scanning electron microscopy. *Int Endod J*. 2018 May 1;51(5):501–8.
2. Silva Almeida LH, Moraes RR, Morgental RD, Pappen FG. Are Premixed Calcium Silicate-based Endodontic Sealers Comparable to Conventional Materials? A Systematic Review of In Vitro Studies. Vol. 43, *Journal of Endodontics*. Elsevier Inc.; 2017. p. 527–35.
3. Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. *J Endod*. 2011 Oct;37(10):1380–5.
4. Berman LH, Hargreaves KM. *Cohen's Pathways of the Pulp* - Louis H. Berman, Kenneth M. Hargreaves - 12th Edition (2020) 992 pp., ISBN: 9780323673044 [Internet]. 2020. Available from: <http://ebooks.elsevier.com>
5. 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*. 2006 Mar;32(3):173–7.
6. Rôças IN, Siqueira JF. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol*. 2012 May;50(5):1721–4.
7. Nawal RR, Parande M, Sehgal R, Naik A, Rao NR. A comparative evaluation of antimicrobial efficacy and flow properties for Epiphany, Guttaflow and AH-Plus sealer. *Int Endod J*. 2011 Apr;44(4):307–13.
8. 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 Oct 1;107(4):513–20.

9. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dentin extends the antibacterial effect of endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2014;40(4):505–8.
10. Morgental RD, Singh A, Sappal H, Kopper PMP, Vier-Pelisser FV, Peters OA. Dentin inhibits the antibacterial effect of new and conventional endodontic irrigants. *J Endod.* 2013 Mar;39(3):406–10.
11. Haapasalo HK, Sire EK, Waltimo TMT, Érstavik D, Haapasalo MPP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. 2000.
12. 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 1;45(8):1047–52.
13. Jiang LM, Hoogenkamp MA, Van Der Sluis LWM, Wesselink PR, Crielaard W, Deng DM. Resazurin metabolism assay for root canal disinfectant evaluation on dual-species biofilms. *J Endod.* 2011 Jan;37(1):31–5.
14. Peeters E, Nelis HJ, Coenye T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *J Microbiol Methods.* 2008 Feb;72(2):157–65.
15. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. Vol. 32, *Journal of Endodontics*. 2006. p. 93–8.
16. Figdor et.al. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiology and Immunology* . 2003;18:234–9.
17. Siqueira JF, Rôças IN. Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. Vol. 34, *Journal of Endodontics*. Elsevier Inc.; 2008.
18. Siqueira JF, Guimarães-Pinto T, Rôças IN. Effects of Chemomechanical Preparation With 2.5% Sodium Hypochlorite and Intracanal Medication With Calcium Hydroxide on Cultivable Bacteria in Infected Root Canals. *J Endod.* 2007 Jul;33(7):800–5.

19. Giudice Garcia Andrea, Torres Navarro John. Obturación en endodoncia. Nuevos sistemas de obturación. Revista Estomatológica Herediana. 2011;166–74.
20. Seung J, Weir MD, Melo MAS, Romberg E, Nosrat A, Xu HHK, et al. A Modified Resin Sealer: Physical and Antibacterial Properties. J Endod. 2018 Oct 1;44(10):1553–7.
21. Dagna A, Colombo M, Poggio C, Russo G, Pellegrini M, Pietrocola G, et al. In Vitro Antibacterial Activity of Different Bioceramic Root Canal Sealers. Ceramics. 2022 Nov 1;5(4):901–7.
22. Torres FFE, Zordan-Bronzel CL, Guerreiro-Tanomaru JM, Chávez-Andrade GM, Pinto JC, Tanomaru-Filho M. Effect of immersion in distilled water or phosphate-buffered saline on the solubility, volumetric change and presence of voids within new calcium silicate-based root canal sealers. Int Endod J. 2020 Mar 1;53(3):385–91.
23. Sfeir G, Zogheib C, Patel S, Giraud T, Nagendrababu V, Bukiet F. Calcium silicate-based root canal sealers: A narrative review and clinical perspectives. Vol. 14, Materials. MDPI AG; 2021.
24. Jitaru S, Hodisan I, Timis L, Lucian A, Bud M. The use of bioceramics in endodontics - literature review. Clujul Medical. 2016;89(4):470–3.
25. Rodríguez-Niklitschek C, Chuhuaicura P, Oporto GH. Antimicrobial Activity of Bioceramic Root Canal Sealers: A Systematic Review Actividad Antimicrobiana de los Cementos Endodónticos Biocerámicos: una Revisión Sistemática. Vol. 15, Int. J. Odontostomat. 2021.
26. Zamparini F, Prati C, Taddei P, Spinelli A, Di Foggia M Di, Gandolfi MG. Chemical–Physical Properties and Bioactivity of New Premixed Calcium Silicate–Bioceramic Root Canal Sealers. Int J Mol Sci. 2022 Nov 11;23(22):13914.
27. Komabayashi T, Colmenar D, Cvach N, Bhat A, Primus C, Imai Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. Vol. 39, Dental Materials Journal. Japanese Society for Dental Materials and Devices; 2020. p. 703–20.

28. Silva Almeida LH, Moraes RR, Morgental RD, Pappen FG. Are Premixed Calcium Silicate-based Endodontic Sealers Comparable to Conventional Materials? A Systematic Review of In Vitro Studies. Vol. 43, Journal of Endodontics. Elsevier Inc.; 2017. p. 527–35.
29. Rodriguez- niklitschek Cynthia OHG. Clinical implications of Enterococcus faecalis microbial contamination in root canals of devitalized teeth: Literature review. Revista Odontológica Mexicana [Internet]. 2015;19(3):177–82. Available from: [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
30. Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm Formation of Oral and Endodontic Enterococcus faecalis. J Endod. 2007 Jul;33(7):815–8.
31. Kapralos V, Koutroulis A, Ørstavik D, Sunde PT, Rukke HV. Antibacterial Activity of Endodontic Sealers against Planktonic Bacteria and Bacteria in Biofilms. J Endod. 2018 Jan 1;44(1):149–54.
32. Munitic M et al. Antibacterial efficacy of bioceramic root canal sealers against planktonic Enterococcus faecalis after different contact and setting time: An in vitro study." Saudi Endodontic Journal. 2022 Apr;12:50–6.
33. 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 1;49(9):858–64.
34. Editorial Board of the Journal of Endodontics. Wanted: A Base of Evidence. 2007.
35. Kont F, Obankara C,, Cenk Altinö H, Erganis, E, Dvm E. In Vitro Antibacterial Activities of Root-Canal Sealers By Using Two Different Methods. 2003.
36. Chaves de Souza L, Teixeira Neves GS, Kirkpatrick T, Letra A, Silva R. Physico-chemical and biological properties of AH Plus Bioceramic. J Endod. 2022 Jan;
37. 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 1;45(8):1047–52.

38. Upadya MH, Kishen A. Influence of bacterial growth modes on the susceptibility to light-activated disinfection. *Int Endod J*. 2010 Nov;43(11):978–87.
39. Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial Activity of Endodontic Sealers by Modified Direct Contact Test Against *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2009 Jul;35(7):1051–5.
40. Matej Rosa YMMRHP. The Short-Term Antibacterial Activity of Three Selected Endodontic Sealers against *Enterococcus faecalis* Bacterial Cultur. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. 2022 Jan 21;12(2):1–21.
41. Haapasalo<sup>1</sup> M, Orstavik<sup>2</sup> D. In vitro Infection and Disinfection of Dentinal Tubules. Vol. 66, *J Dent Res*. 1987.
42. Camargo CHR, Siviero M, Camargo SEA, de Oliveira SHG, Carvalho CAT, Valera MC. Topographical, Diametral, and Quantitative Analysis of Dentin Tubules in the Root Canals of Human and Bovine Teeth. *J Endod*. 2007 Apr;33(4):422–6.
43. Loushine BA, Bryan TE, Looney SW, Gillen BM, Loushine RJ, Weller RN, et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod*. 2011 May;37(5):673–7.
44. Hsien Huang Tsui LCCJHCTKChia. Comparison of antibacterial activities of root-end filling materials by an agar diffusion assay and Alamar blue assay. *J Dent Sci*. 2012 May 7;7:336–41.
45. Al-Haddad A, Aziz ZACA. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. Vol. 2016, *International Journal of Biomaterials*. Hindawi Limited; 2016.
46. Heling liana, Paul Chandler N. The Antimicrobial Effect within Dentinal Tubules of Four Root Canal Sealers. Vol. 22. 1996.
47. Mchugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH Required to Kill *Enterococcus faecalis* in Vitro. Vol. 30. 2004.

## 11 ANEXOS

### 11.1 Carta de aprobación del comité de ética



San Luis Potosí, S.L.P. 2 DE OCTUBRE DE 2022

C.D. Llilenis Mendoza Arrocha  
Maestría en Endodoncia  
Facultad de Estomatología, UASLP  
**P R E S E N T E**

Por este conducto me dirijo a Usted en referencia a su trabajo de investigación titulado *"Evaluar el efecto antibacteriano de cementos selladores biocerámicos CeraSeal y AHPlus Biocerámico contra Enterococcus faecalis"* Asignado con la clave: **CEI-FE-076-022**.

Dicho trabajo fue evaluado en los **aspectos del marco ético-legal y bioseguridad** por los miembros del H. Comité de Ética en Investigación: M. en C. Ana María Guadalupe González Amaro, Dra. Yolanda Hernández Molinar, Dra. Norma Verónica Zavala Alonso, Dra. Claudia Edith Dávila Pérez, Dra. Rita Elizabeth Martínez Martínez, Dr. José Arturo Garrocho Rangel, M en C. Alan Martínez Zumarán y CMF Víctor Mario Fierro Serna. De dicha evaluación y de forma colegiada, el Comité ha dictaminado que su protocolo de investigación ha sido **APROBADO POR UNANIMIDAD** pudiendo llevarlo a cabo en los tiempos que Usted ha considerado necesarios para su ejecución.

El Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Estomatología se rige con la clave **CONBIOÉTICA-24-CEI-001-20190213** de acuerdo con las directrices nacionales para la integración y funcionamiento de los Comités de Ética e Investigación emitidas por la Comisión Nacional de Bioética (CONBIOÉTICA).

Le solicitamos nos haga llegar los informes correspondientes del **AVANCE** de su proyecto de investigación, así como un **INFORME FINAL** para nuestro archivo, recordándole además que este proyecto podrá ser monitoreado en cualquier momento por este Comité.

ATENTAMENTE

  
DRA. RITA ELIZABETH MARTÍNEZ MARTÍNEZ  
PRESIDENTE DEL H. COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA, UASLP

[www.uaslp.mx](http://www.uaslp.mx)

Av. Dr. Manuel Navarro  
Zona Universitaria s/n. P. 66240  
San Luis Potosí, S.L.P. México  
tel. +52 (444) 826-2300  
ext. 5116 a 5120  
(444) 813 9745, 854 7527 21 y 25  
[www.informacion@uaslp.mx](http://www.informacion@uaslp.mx)  
[informacion@uaslp.mx](mailto:informacion@uaslp.mx)