



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN**

**Actividad antimicrobiana de un cemento sellador
modificado con micro y nanopartículas**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN ODONTOLOGÍA**

P R E S E N T A :

Paloma Netzayeli Serrano Díaz

**TUTORA: Esp. Paola Campos Ibarra
ASESORA: Dra. Laura Susana Acosta Torres
ASESORA: Dra. Rosa Elvira Nuñez Anita**

León, Gto.

2016





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante mi formación universitaria.

A mis padres Javier y Francisca, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores principalmente perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mis hermanas Isabel, Citlali, Monica, Celeste y Verónica, por ser las mejores amigas y por su apoyo incondicional, por creer en mí .

Finalmente a los maestros, aquellos que marcaron cada etapa mi camino universitario, y que me ayudaron en asesorías y dudas presentadas en la elaboración de la tesis

¡Gracias a ustedes!

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de crecimiento profesional y personal.

Agredecimiento a la ENES Unidad León de la UNAM por brindarme la oportunidad de ser parte de este gran proyecto de modelo educativo así como de la primer generación.

Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) DGAPA/UNAM PAPIIT-TA200414

Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) DGAPA/UNAM PAPIME-PE202214

Agradecimiento al Proyecto del Apoyo al Fortalecimiento y Desarrollo de la Infraestructura Científica y Tecnológica, CONACyT 2014 con el proyecto: Desarrollo de la Infraestructura Científica de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, UNAM

Agradecimiento a la Dra. Genoveva Hernández Padrón por la realización de la Técnica de Espectroscopía Infrarrojo de las micro y nanopartículas

Agradecimiento a la Dra. Marina Vega González por la realización de la la Micorsocpía Electrónica de Barrido.

Agradecimiento a la Mra. Lourdes Palma Tirado por la realización del análisis de Micorsocpía Electrónica de Transmisión.

A la Dra. Rosa Elvira Núñez por su apoyo científico en todo momento.

A mis dos grandes maestras que me llevaron de la mano en este proyecto la Dra. Paola Campos por su iniciativa, confianza así como sus enseñanzas de la ciencia de la Endodoncia para llevar a cabo este proyecto de investigación.

A la Dra. Laura Acosta por su apoyo incondicional, instruirme en el arte de la investigación y el conocimiento para que éste proyecto no solo se quedara en una idea.

Índice

Resumen	6
Capítulo 1	7
1.1 Introducción	7
Capítulo 2	8
Marco Teórico	8
2.1 Biología pulpar	8
2.1.2 Zonas morfológicas de la pulpa	9
2.1.3 Inervación	10
2.1.4 Vascularización	11
2.2 Funciones de pulpa	12
2.3 Enfermedades pulpo-periapicales	13
2.4 Reacción de la pulpa a irritación bacteriana	18
2.5 Biopelícula bacteriana bucal	21
2.6 Biopelícula bacteriana endodóncica o biopelícula extraradicular	22
2.6.1 Formación de la biopelícula del conducto radicular	24
2.6.2 Biopelícula y la periodontitis apical	24
2.7 Fracaso endodóntico: Retratamiento	25
2.7.1 Microbiología en los fracasos endodóncicos	26
2.8 Materiales Dentales en Endodoncia	27
2.8.1 Características y propiedades de los materiales para la obturación de los conductos radiculares	27
2.8.1 Clasificación	30
2.8.2 Materiales llevados en estado sólido: conos	30
2.8.3 Cementos selladores de conductos en endodoncia	31
2.8.4 Requisitos de un sellador	32
Capítulo 3	34
3.1 Antecedentes	34
3.1.1 Agentes antimicrobianos	35
3.1.2 Quitosán	35
3.1.3 Triclosán	36
3.1.4 Terbinafina	37

3.1.5 Nanopartículas de plata (AgNPs)	37
3.1.6 Yodoformo.....	38
Capítulo 4	40
4.1 Planteamiento del problema.....	40
4.2 Justificación.....	41
4.3 Objetivo general	41
4.4 Objetivos específicos.....	42
4.5 Pregunta de investigación.....	42
4.6 Hipótesis.....	42
Capítulo 5	43
5.1 Tipo de estudio.....	43
Estudio experimental, transversal.....	43
5.2 Universo de estudio.....	43
I. Agentes antimicrobianos: Micropartículas de triclosán, terbinafina, yodoformo, quitosán y nanopartículas de plata.....	43
II. Microorganismos: cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Enterococcus faecalis</i>	43
5.3 Variables dependientes	43
5.4 Variables independientes	43
5.5 Criterios de inclusión.....	43
5.6 Criterios de exclusión	44
5.7 Criterios de eliminación	44
5.8 Método.....	44
Capítulo 6	50
6.1 Resultados	50
6.2 Discusión	61
Capítulo 7	64
Conclusiones	64
Bibliografía	65

Resumen

Introducción: El éxito del tratamiento de conductos depende en gran medida de la eliminación completa de los agentes contaminantes presentes así como de una efectiva desinfección del sistema de conductos radiculares; no podría lograrse sin el uso de irrigación, medicación y utilización de cementos selladores adecuados. El objetivo del presente estudio fue evaluar la inhibición del crecimiento de *Candida albicans* así como de *Enterococcus faecalis* mediante el uso de cementos selladores de conductos adicionados con diferentes agentes antimicrobianos.

Método: Fueron cultivados *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* y mediante el método de difusión en agar fue evaluada la inhibición en presencia de cementos selladores experimentales endodóncicos a base de óxido de zinc y eugenol. Fueron colocados discos de papel con cemento sellador endodóncico a base de óxido de zinc y eugenol (ZOE) adicionado con diferentes agentes modificantes. Los grupos de estudio fueron (n=5): ZOE + triclosán; ZOE + quitosán, ZOE + nanopartículas de plata; ZOE + terbinafina y ZOE + yodoformo. Fueron incubados durante 48 h y posteriormente la zona de inhibición de crecimiento fue medida. Se aplicó ANOVA de una Vía ($P < 0.05$) y Tukey test.

Resultados: El ensayo de difusión en agar muestra las siguientes zonas de inhibición (mm) para *Candida albicans*: 1) terbinafina (10 ± 3); 2) yodoformo (5.3 ± 2); 3) quitosán (5 ± 3); 4) triclosán (3 ± 2) y 5) AgNPs (2 ± 1). Para *Enterococcus faecalis*: 1) quitosán (2.1 ± 0.8); 2) terbinafina (2.5 ± 1); 3) AgNPs (0.91 ± 0.4); 4) triclosán (0.88 ± 0.04) y 5) yodoformo (0.3 ± 0.04).

Conclusiones: El grupo experimental con terbinafina resultó ser el más efectivo en inhibir la proliferación de *Candida albicans*, así como quitosán para *Enterococcus faecalis*. Lo cual indica que estos materiales podrían ser utilizados con éxito clínico en la eliminación de microorganismos presentes en el conducto radicular después de realizado el tratamiento de conductos.

Palabras clave cemento endodóncico, óxido de zinc y eugenol, nanopartículas de plata, yodoformo, quitosán, triclosán, terbinafina.

Capítulo 1

1.1 Introducción

El principal objetivo del tratamiento de Endodoncia es la eliminación de microorganismos que se encuentran dentro del conducto radicular, así como evitar la reinfección. Los microorganismos son considerados el principal agente etiológico de las enfermedades endodóncicas persistentes.

El tratamiento de endodoncia es una terapia altamente predecible. El éxito del tratamiento depende principalmente de una apropiada limpieza, conformación y desinfección del conducto radicular, así como una apropiada obturación para prevenir la microfiltración. Los materiales selladores actuales poseen ciertas limitaciones tales como solubilidad en el medio ambiente oral, así como intolerancia a la humedad. Por lo tanto, el desarrollo de un material apropiado para la limpieza, conformación y el sellado de conductos radiculares es esencial para un tratamiento exitoso.

A pesar de que el tratamiento tiene alto porcentaje de éxito, puede fracasar si se tiene una inadecuada limpieza o conformación del conducto radicular en especial en conductos anatómicamente complejos; además de presentar una continua microfiltración de bacterias debido a la ausencia de características ideales del material sellador.

La literatura referente al papel de los microorganismos en la enfermedad pulpar y periapical se ha centrado en la presencia, patogenicidad y eliminación de las bacterias. Sin embargo, existe evidencia que indica la presencia fungi en el conducto radicular. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio es evaluar la inhibición de un cemento sellador endodoncico experimental a base de óxido de zinc y eugenol adicionado con agentes antimicrobianos en diferentes concentraciones ante *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1 Biología pulpar

La pulpa es un tejido único, se trata de un tejido blando de origen mesenquimatoso con células especializadas (los odontoblastos), dispuestos periféricamente en contacto directo con la matriz de dentina. La relación que se establece entre los odontoblastos y la dentina, denominada complejo pulpa-dentina, es una de las razones por las cuales la pulpa y la dentina se deben considerar una unidad funcional compuesta por elementos histológicamente diferentes (Cohen, 2008). La pulpa se encuentra en un medio poco distensible limitando su capacidad para aumentar de volumen durante episodios de vasodilatación y presión tisular aumentada. La pulpa alberga elementos tisulares, entre los que se encuentran nervios, tejido vascular, fibras de tejido conectivo, sustancia fundamental, fluido intersticial, odontoblastos, fibroblastos, células del sistema inmune y otros elementos celulares. La pulpa es realmente un sistema microcirculatorio y sus mayores componentes vasculares son las arteriolas y las vénulas (Walton-Torabinajed, 2003). No existen verdaderas arterias o venas que entren o salgan de la pulpa, carece de un verdadero sistema colateral y depende de las pocas arteriolas que entran a través de los orificios radiculares. Después del desarrollo dental la pulpa conserva su capacidad de formar dentina a lo largo de toda la vida, permitiendo que la pulpa vital compense parcialmente la pérdida de esmalte o dentina causada por traumatismo mecánico o una enfermedad (Cohen, 2011).

2.1.2 Zonas morfológicas de la pulpa

Por la disposición de sus componentes estructurales podemos observar en la pulpa cuatro regiones diferentes (**Figura 1**). Las zonas identificadas desde la preentina hacia la pulpa son (Cohen, 2008; Gómez de Ferraris, 2009):

Capa odontoblástica

Es el estrato celular más externo de la pulpa sana que está constituido por odontoblastos dispuestos en empalizada y debajo de los odontoblastos se encuentran las células denominadas subodontoblásticas de Hohl que proceden de la última división mitótica que da origen a los odontoblastos.

Zona pobre en células

Bajo la capa odontoblástica de la pulpa se encuentra esta zona de un ancho aproximado de 40 μm y en pulpas maduras puede alcanzar un espesor de hasta 60 μm relativamente libre de células. En esta zona se identifica el plexo pulpar.

Zona rica en células

Esta área contiene una proporción elevada de fibroblastos. Esta capa es mucho más prominente en la pulpa coronal que en la radicular. Además de fibroblastos, esta zona puede contener un número variable de macrófagos, células dendríticas y células mesenquimatosas indiferenciadas o células madre.

Pulpa propiamente dicha

Es la masa central de la pulpa formada por tejido conectivo laxo característico de la pulpa. Contiene vasos sanguíneos y nervios. La población celular está representada por fibroblastos, macrófagos y células ectomesenquimatosas de localización perivascular.

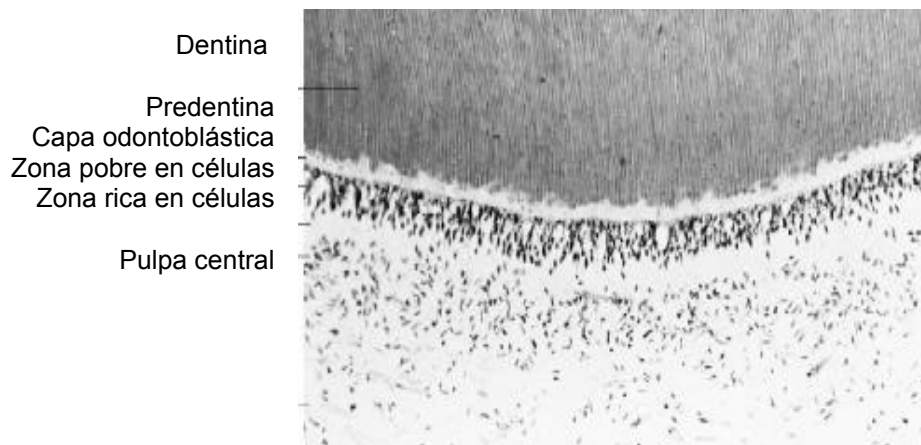


Figura 1. Zonas morfológicas de la pulpa (Cohen, 2008)

2.1.3 Inervación

A segunda y tercera divisiones (V2, V3) del nervio trigémino proporciona la inervación sensorial principal de la pulpa de los dientes superiores e inferiores (Walton, 2003). La transmisión de información sensitiva consiste en una serie de acontecimientos que incluyen: estímulo, procesado, percepción, de forma que el control del dolor dental debe basarse en el conocimiento del origen de las señales del dolor y la compleja modulación que se produce a nivel falta referencia (Zegarra-Pierola, 2007).

El sistema sensitivo de la pulpa parece estar adecuado para señalar el daño potencial al diente. El diente está inervado por un gran número de axones mielínicos y amielínicos. En la pulpa existen dos tipos de fibras nerviosas sensoriales: mielínicas (fibras A) y amielínicas (fibras C). Los investigadores han demostrado cierta superposición funcional entre las fibras pulpares A y C, porque los dos tipos de fibras pueden ser nociceptoras. Las fibras A pueden ser β ($A\beta$) y δ ($A\delta$). Las fibras $A\beta$ quizá sean ligeramente más sensibles a la estimulación que las

A δ , pero ambos tipos se agrupan desde el punto de vista funcional en la pulpa dental puesto que ambas inervan los túbulos dentinarios y ambas se estimulan por movimientos del fluido dentinario. Aproximadamente el 90% de las fibras A son A δ (Cohen, 2008).

2.1.4 Vascularización

La pulpa tiene vascularidad extensa. La sangre procedente de la arteria dental entra en el diente a través de arteriolas con diámetros de 100 μ m o menos. Estos vasos pasan a través del foramen o los forámenes apicales junto con fascículos nerviosos. Los vasos menores pueden entrar en la pulpa a través de conductos laterales o accesorios. Las arteriolas cursan hacia coronal por la porción central de la pulpa radicular y producen ramas que se extienden lateralmente hacia la capa odontoblástica, debajo de la que se ramifican para formar un plexo capilar (Ingle, 2002).

Conforme las arteriolas entran en la pulpa coronal, se abren en abanico hacia la dentina (**Figura 2**), disminuyen de tamaño y dan lugar a una red capilar en la región subodontoblástica. Esta red proporciona a los odontoblastos una fuente rica de metabolitos. El flujo sanguíneo capilar de la porción coronal de la pulpa es casi dos veces mayor que el de la porción radicular. Además, el flujo sanguíneo de la región de los cuernos es mayor que el de otras áreas de la pulpa (Gómez de Ferraris, 2009).

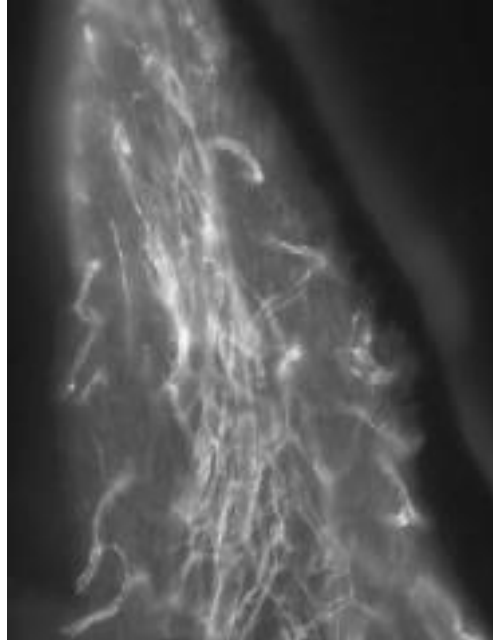


Figura 2. Los vasos sanguíneos del cuerno pulpar se abren en abanico en la capa odontoblástica (Cohen, 2008).

2.2 Funciones de pulpares

La pulpa desempeña cinco funciones:

1.-Formadora: Crear dentina primaria y secundaria, es la función principal de la pulpa tanto en secuencia como en importancia. Los odontoblastos se diferencian de la papila dental adyacente a la membrana basal del órgano del esmalte la cual después deposita dentina.

2.-Nutritiva: Proporcionando el suministro vascular y medio de transferencia de la sustancia fundamental para las funciones metabólicas y el mantenimiento de las células y de la matriz orgánica.

3.-Sensitiva: La pulpa transmite sensaciones de respuesta dolorosa aferente (nocicepción) y la respuesta propioceptiva, así como también a los cambios de temperatura.

4.-Protectora: Respondiendo a los estímulos inflamatorios y antigénicos y removiendo sustancias perjudiciales a través de su circulación y de los sistemas linfáticos.

5.-Reparadora: La formación de dentina reparadora y esclerótica por los odontoblastos formando la respuesta protector en respuesta a daños en la dentina tal como se observan cuando existen daños por caries, atrición, trauma o procesos restaurativos (Walton-Torabinajed, 1997; Garg & Garg, 2010; Canaldas, 2014).

2.3 Enfermedades pulpo-periapicales

En la cavidad oral hay diversos elementos anatómicos susceptibles de ser colonizados superficialmente por los microorganismos. Los tejidos duros dentarios actúan como barreras mecánicas defensivas impidiendo la invasión microbiana de la pulpa. Las bacterias pueden utilizar diversas puertas de entrada hacia la cavidad pulpar. Pueden penetrar al interior de la cavidad pulpar a través de una destrucción parcial o completa del diente, anacoressis o por medio del periodonto (AAE Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology, 2009). Durante años se han realizado intentos por realizar clasificaciones de las afecciones pulpares y periapicales. En términos generales se utilizan datos objetivos y subjetivos para clasificar la patología sospechada de modo que las denominaciones asignadas representan la presencia de tejido sano o enfermo. Estas clasificaciones resultantes se utilizan para determinar la necesidad de tratamiento endodónico.

En 2009 la Asociación Americana de Endodoncia propuso la “Clasificación Clínica de Patología Pulpar y Periapical en diciembre del 2009” (AAE Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology, 2009). Resumen en **Tablas 1 y 2**.

Tabla 1. Clasificación de patologías pulpares.

DIAGNÓSTICO PULPAR	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS
PULPA NORMAL	<ul style="list-style-type: none"> • Clínicamente está libre de síntomas y responde positivo a parámetros normales en las pruebas de sensibilidad. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sin alteración periapical.
PULPITIS REVERSIBLE	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos en donde la pulpa vital inflamada retornará a la normalidad. • No existen antecedentes de dolor espontáneo. • Dolor transitorio de leve a moderado provocado por estímulos: frío, calor, dulce. • Pruebas de sensibilidad positivas, térmicas y eléctricas. • Obturaciones fracturadas o desadaptadas o caries. 	<ul style="list-style-type: none"> • No presenta cambios.
PULPITIS IRREVERSIBLE SINTOMÁTICA	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos indicando que la pulpa vital inflamada es incapaz de repararse. • Dolor a los cambios térmicos. • Dolor referido, espontáneo de moderado a severo • Dolor que disminuye con el frío y aumenta con calor • Pruebas de sensibilidad positivas térmicas y eléctricas. • El dolor permanece después de retirado el estímulo • Dolor a la percusión. • Puede presentar caries. 	<ul style="list-style-type: none"> *Posible engrosamiento del espacio del ligamento periodontal. • Zona radiolúcida de la corona compatible con caries. • Imagen radiopaca compatible con restauraciones profundas.
PULPITIS IRREVERSIBLE ASINTOMÁTICA	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos indicando que la pulpa vital inflamada es incapaz de repararse. • No hay síntomas clínicos. La inflamación es producida por caries o trauma. • Exposición pulpar por caries, fractura 	<ul style="list-style-type: none"> • Sin alteración periapical. • Posible engrosamiento del espacio del ligamento periodontal. • Zona radiolúcida en la corona compatible

	<p>coronal complicada sin tratamiento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pruebas de sensibilidad positivas con respuesta anormal prolongada, en ocasiones retardadas. 	<p>asociada a caries, restauraciones profundas o trauma.</p>
NECROSIS PULPAR	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico clínico que indica muerte pulpar. • Usualmente no responde a las pruebas de sensibilidad; negativas pueden dar falsos positivos en dientes multirradiculares donde no hay necrosis total de todos los conductos, por fibras nerviosas remanentes en apical y estimulación de fibras del periodonto a la prueba eléctrica. • Cambio de color coronal que puede ser de matiz pardo, verdoso o gris. • Presenta pérdida de la translucidez y la opacidad se extiende a la corona. • Puede presentar movilidad y dolor a la percusión • Puede encontrarse el conducto abierto a la cavidad oral. 	<ul style="list-style-type: none"> • Ligero ensanchamiento del espacio del espacio del ligamento Periodontal. • Radiolúcido de la corona compatible con caries. • Radiopacidad compatible con restauraciones profundas.
PREVIAMENTE TRATADO	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico clínico indicando que el diente ha sido endodóncicamente tratado. 	<ul style="list-style-type: none"> • No existen cambios en los tejidos de soporte circundante. • Conducto radicular obturado en calidad y longitud en diferentes materiales
PREVIAMENTE INICIADO	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico clínico que indica que el diente ha sido previamente iniciado como una pulpectomía/pulpotomía. 	<ul style="list-style-type: none"> • No existen cambios en los tejidos de soporte.

Tabla 2. Clasificación de patologías periapicales.

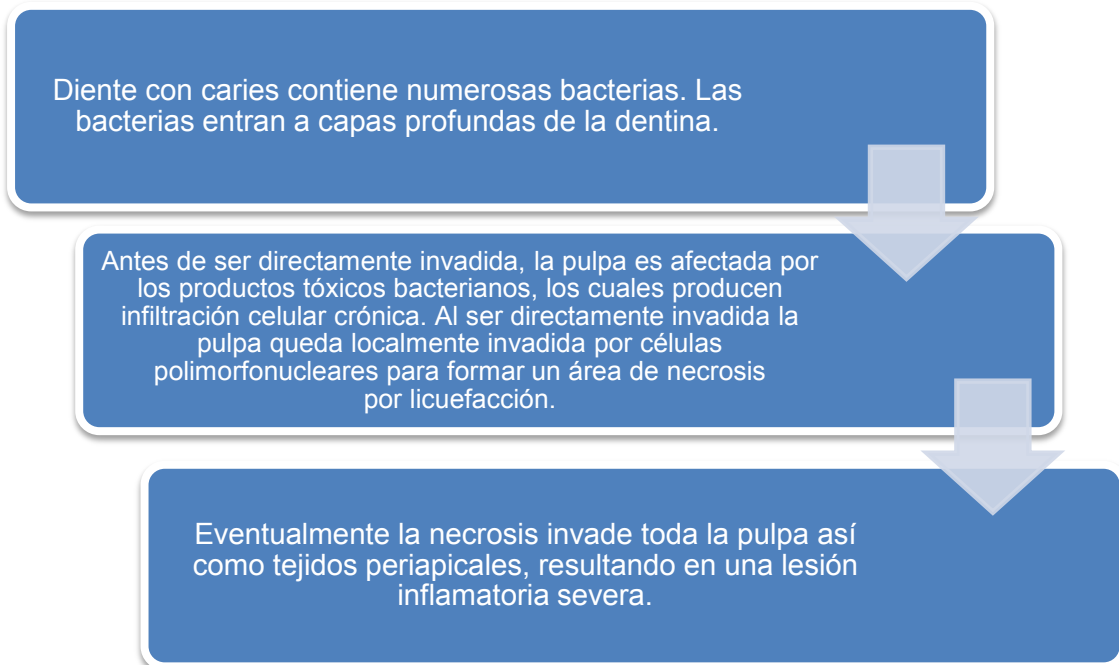
DIAGNÓSTICO PERIAPICAL	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS
TEJIDOS APICALES SANOS	<ul style="list-style-type: none"> • Periodonto perirradicular sano. • Negativo a palpación y percusión. 	<ul style="list-style-type: none"> • Espacio del ligamento periodontal uniforme. • Lamina dura intacta.
PERIODONTITIS APICAL SINTOMÁTICA	<ul style="list-style-type: none"> • Dolor espontáneo o severo • Dolor localizado persistente y continuo. • Dolor tan severo que puede interrumpir las actividades cotidianas. • Dolor a la percusión y palpación. • Sensación de presión en la zona apical del diente. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se puede o no observar cambios en los tejidos de soporte circundante • Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal. • Puede o no estar asociada a radio lucidez apical.
PERIODONTITIS APICAL ASINTOMÁTICA	<ul style="list-style-type: none"> • Generalmente asintomática o asociada a molestia leve. • Tejidos circundantes dentro de parámetros normales. • Respuesta positiva a percusión. • Sensibilidad a la palpación, si existe compromiso de la tabla ósea vestibular. • Pruebas de sensibilidad y eléctricas negativas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Zona radiolúcida apical de origen pulpar.
ABSCESO APICAL CRÓNICO	<ul style="list-style-type: none"> • Proceso infeccioso por una necrosis pulpar caracterizado por un comienzo gradual. • Ligera sensibilidad. • Presencia de fístula. • Asintomática. • Pruebas de sensibilidad negativas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Zona radiolúcida apical. • Se debe realizar una fistulografía con cono de gutapercha.
ABSCESO APICAL AGUDO	<ul style="list-style-type: none"> • Proceso infeccioso por una necrosis pulpar. • De comienzo rápido. • Dolor espontáneo, Dolor a la presión, percusión y palpación. 	<ul style="list-style-type: none"> • Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal o una zona de reabsorción ósea apical, asociada a una periodontitis apical asintomática.

	<ul style="list-style-type: none"> • Exudado purulento. • Inflamación intra o extraoral. • Dolor localizado y persistente. • Dolor constante y/o pulsátil. • Dolor a la presión (sensación de diente extruido) • Dolor localizado o difuso de tejidos blandos intraorales. • Movilidad aumentada. • Dolor a la percusión. • Malestar general. • Puede o no revelar cambios en el tejido circundante periapical. 	
<p>OSTEITIS CONDENSANTE</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Proceso inflamatorio crónico de baja intensidad. • Puede o no responder a pruebas de sensibilidad. • Puede o no ser sensible a palpación y/ o percusión. 	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de una zona radiopaca apical difusa concéntrica alrededor del tercio apical radicular. • Se observa presencia del espacio del ligamento periodontal.

2.4 Reacción de la pulpa a irritación bacteriana

La reacción de la pulpa a la irritación bacteriana se explica en el siguiente diagrama de flujo (**Diagrama 1**); (Garg & Garg , 2010):

Diagrama 1. Reacción de la pulpa a la irritación bacteriana.



La invasión bacteriana tiene como resultado necrosis pulpar afectando los tejidos del periápice (López-Marcos, 2004). La necrosis pulpar es la descomposición séptica o no (aséptica), del tejido conjuntivo pulpar que cursa con la destrucción del sistema microvascular y linfático de las células y, en última instancia, de las fibras nerviosas.

Se observa un drenaje insuficiente de los líquidos inflamatorios debido a la falta de circulación colateral y la rigidez de las paredes de la dentina, originando un aumento de la presión de los tejidos conforme avanza la inflamación, el tejido sigue desintegrándose en el centro, para formar una región progresiva de necrosis por licuefacción y dando lugar a una destrucción progresiva hasta que toda la pulpa se necrosa.

La necrosis puede ser parcial o total dependiendo de la extensión del daño a la pulpa (Grag &Garg, 2010).

La mayor parte de las necrosis pulpares obedecen a infecciones polimicrobianas (**Tabla 3**) y mixtas que incluyen aerobios estrictos, anaerobios facultativos o microaerofílicos como microorganismos concomitantes. Estos últimos, y los aerobios estrictos, disminuyen la tensión de oxígeno y el potencial de oxidorreducción en los tejidos lo que, al dificultar los procesos fagocíticos, facilita el desarrollo y multiplicación microbiana, especialmente de bacterias estrictamente anaerobias (Canaldas, 2014). Nair observó que la mayoría de las bacterias colonizan la luz del conducto y se agrupan sobre el tejido pulpar necrosado (Nair, 1987).

Tabla 3. Bacterias aerobias y anaerobias facultativas aisladas en la necrosis pulpar (Canaldas, 2014).

Morfología	Tinción	Género	Especie
Coccus	Grampositivos	<i>Streptococcus</i>	<i>milleri</i>
			<i>oralis</i>
			<i>intermedius</i>
			<i>morbiliorum</i>
			<i>mutans</i>
			<i>sanguis</i>
Bacilos	Grampositivos	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i>
			<i>aureus</i>
		<i>Staphylococcus</i>	<i>epidermidis</i>
			<i>xerosis</i>
		<i>Corynebacterium</i>	<i>catenaforme</i>
			<i>minutus</i>
		<i>Lactobacillus</i>	<i>odontolyticus</i>
			<i>israeli</i>
			<i>meyeri</i>
			<i>viscosus</i>
Levaduras	Gramnegativos	<i>Eikenella</i>	<i>corrodens</i>
			<i>ochracea</i>
		<i>Capnocytophaga</i>	<i>spp</i>
			<i>rectus</i>
		<i>Campylobacter</i>	<i>albicans</i>
			<i>glabrata</i>

2.5 Biopelícula bacteriana bucal

La biopelícula bacteriana se define como una comunidad de microorganismos sésil, incluida en una matriz extracelular de polisacárido producida por las bacterias que se encuentra adherida a una superficie. La boca es similar a otros hábitats en el cuerpo ya que posee una microbiota característica, con diferentes superficies y comunidades microbianas, la composición y el metabolismo de los cuales son dictadas por las condiciones ambientales locales. La microbiota crece en las superficies orales como comunidades de especies que interactúan metabólicamente-organizados, denominado biopelícula (Sirvent, 2015; Marsh, 2015).

Los 215 cm² de área de superficie de la cavidad bucal presentan numerosas superficies para la colonización microbiana. Las diversas superficies mucosas están recubiertas por distintos tipos de epitelios, mientras que las superficies duras son representadas por los dientes o diversos tipos de prótesis; estas superficies se encuentran continuamente bañadas por un “volumen de fluido”, principalmente saliva, existe, por lo tanto un entorno excelente para el desarrollo de la biopelícula. (Marsh, 2015). Los microorganismos que colonizan estas superficies producen biopelículas de distintas complejidades, en función de la localización intrabucal, los antecedentes genéticos y los factores ambientales específicos de cada persona. Se ha demostrado que pueden producirse notables diferencias en la composición microbiana de una persona a otra, de un tipo de localización intrabucal a otro en el mismo individuo (por ejemplo: el dorso de la lengua frente a placa subgingival) y de tipos parecidos de zonas en el mismo individuo (Socransky, 2006).

Todas las biopelículas constan de tres componentes (**Figura 3**): una superficie para la adherencia de la biopelícula, la propia comunidad de la biopelícula, y el “caudal de fluido” que pasa sobre la biopelícula, proporcionando nutrientes para los microorganismos colonizadores, eliminando los productos metabólicos de desecho y transportando las células a nuevas zonas de colonización (Socransky & Haffajee, 2006).

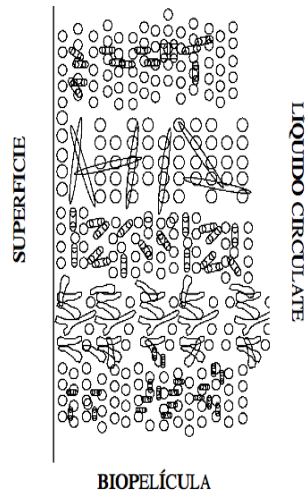


Figura 3. Composición de la biopelícula (Socransky & Haffajee, 2006).

2.6 Biopelícula bacteriana endodónica o biopelícula extraradicular

Una de las principales causas de fracaso endodónico es la persistencia, multiplicación y migración de bacterias desde el interior de los conductos hacia los tejidos periapicales, es cuestión de tiempo el que estas bacterias alcancen el periápice, en donde se manifiesta el fracaso; el cual es caracterizado por la persistencia de los signos o síntomas incluyendo dolor, exudado o un tracto fistuloso; indicativo de una infección lo cual pone en evidencia que el tratamiento no tuvo éxito (Ricucci & Siqueira, 2010). Se han descrito formaciones de biopelícula tanto en el interior del conducto radicular como en la superficie externa de la raíz. Dicha localización determinará el tipo de tratamiento, ya que no se enfocará de igual manera si se trata de biofilm intraradicular o extraradicular (Socransky & Haffajee, 2002).

Las bacterias que colonizan el interior de los conductos radiculares no acostumbran a vivir solas sino agrupadas en poblaciones densas y firmemente adheridas a la dentina radicular, formando biopelículas (**Figura 4**) (Ozok, 2007). La

biopelícula es una de las causas más comunes de infección endodóncica persistente y su erradicación es difícil. En muchos de los casos de fracaso asociados a un tratamiento de conductos adecuado las bacterias se localizan de forma ordenada en forma de biopelícula en áreas distantes del canal principal incluyendo túbulos dentinarios, istmos, canales laterales así como ramificaciones apicales (Ricucci & Siqueira, 2010). Se constituyen por autoagregación o coagregación y tienen preferencia por los tejidos necróticos (Garg & Garg, 2010).

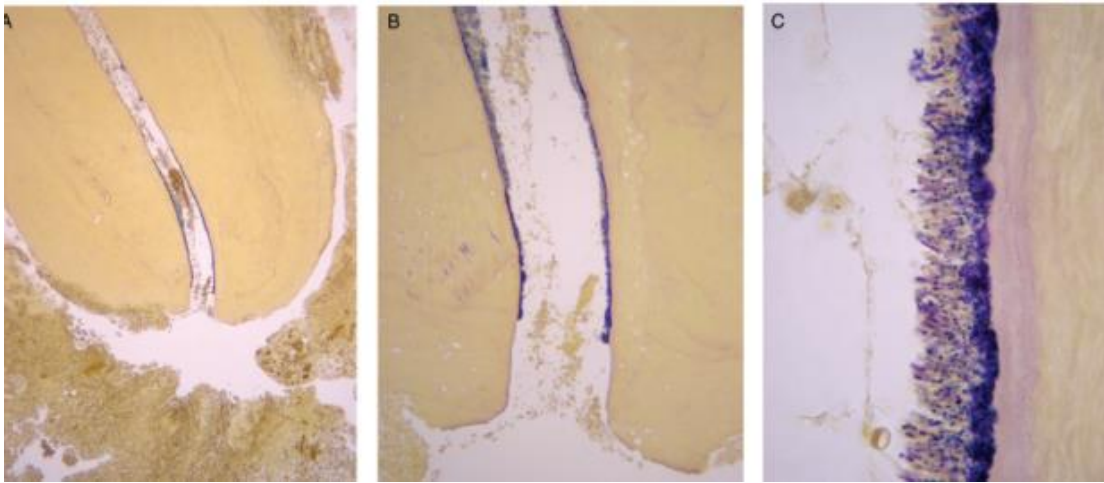


Figura 4. Muestra de la formación de biopelícula en las paredes del conducto radicular de un diente extraído con lesión periapical. Se utilizó tinción de Brown & Brenn modificada para la identificación de bacterias. Se observan bacterias revistiendo las paredes del conducto radicular en lo que parece ser una biopelícula (A y B). A mayor aumento se observa la agregación de numerosos cocos y organismos filamentosos (C) (Svensater & Bergenholtz, 2004).

2.6.1 Formación de la biopelícula del conducto radicular

A pesar de que no se conoce específicamente el mecanismo de formación de la biopelícula del conducto radicular Svensäter y Bergenholtz propusieron una hipótesis en 2004.

1.- Formación de una película adhesiva sobre la dentina promovida por el depósito de proteínas y otros compuestos derivados de las bacterias en suspensión, del proceso necrosis y/o inflamación.

2.- Fijación de bacterias específicas con capacidad de adhesión, de todas las que están en suspensión.

3.- La primera capa de bacterias ya adherida, segrega mediadores que, por un lado van fijando más y más bacterias, de esa estirpe o de otras, y por otro, va formando la matriz extracelular de polisacárido, primera barrera defensiva característica del biofilm.

4.- La biopelícula va madurando y creando sistemas de defensa más complejos. Al mismo tiempo, arroja bacterias al exterior que cronifican la respuesta inflamatoria del huésped (Svensäter & Bergenholtz, 2004).

2.6.2 Biopelícula y la periodontitis apical

La biopelícula está presente en el tercio apical en un 77% de las periodontitis apicales. Rôças *et al*, 2000 observaron que *E. faecalis* es más prevalente en periodontitis apicales asintomáticas (de 29 - 77%) que en las que producen sintomatología, y a su vez es más frecuentes en infecciones persistentes de origen endodónico, una de las peculiaridades de esta bacteria, al igual que algunas especies de *Candida*. Waltimo *et al*, 2004 identificaron levaduras en un 7% de las muestras obtenidas de conductos infectados con periodontitis apical persistente. Aislaron los géneros *Candida* (más prevalente) y *Geotrichum* (*G. candidum*). *C.*

albicans fue la especie más frecuentemente aislada, aunque también identificaron *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii* y *Candida inconspicua* (Siqueira, 2003).

Las bacterias incluidas en una biopelícula resisten más la acción de los antimicrobianos. Algunas subsistirán en el centro de la biopelícula en estado de latencia, incluso en condiciones ambientales desfavorable (Marsh, 2015).

Estos microorganismos, conocidos también como persistentes, son muy resistentes a elevadas concentraciones de agentes antimicrobianos. Su eliminación indirecta se alcanza, en un primer paso, alterando lo suficiente el hábitat como para hacerlo hostil. En un segundo paso, el sellado del sistema de los conductos radiculares mantendrá ese hábitat sin aporte de nutrientes nuevos el tiempo suficiente como para que la biopelícula, finalmente, perezca por inanición. (Sirvent, 2010).

2.7 Fracaso endodóntico: Retratamiento

El tratamiento de conductos será un proceso de fracaso cuando no se consiga restaurar la función normal de éste al presentar signos y síntomas, como dolor, inflamación, fístula persistente, etc., aunque radiográficamente existan o no signos de rarefacción (Sunde, 2002). Existe una elevada incidencia de fracasos debido al desconocimiento de muchos de los aspectos básicos y primordiales como son el diagnóstico, la morfología dentaria, la asepsia (aislamiento absoluto) del campo operatorio e incluso falta de experiencia para realizar una buena apertura, localización de conductos o una buena instrumentación y obturación del sistema de conductos radiculares; no podemos ignorar que reportes epidemiológicos muestran una incidencia de fracaso que oscila entre el 25 a un 40% (Siqueira y Rôças, 2008).

El retratamiento de endodoncia está indicado cuando el primer tratamiento de conductos ha fracasado de manera que se corrige mediante una mejor conformación y limpieza así como obturación del conducto radicular. La presencia de una zona radiolúcida periapical está asociada como criterio de “fracaso” y, por consiguiente, una indicación para intervención clínica así entre otros criterios

clínicos de fracaso tales como: movilidad dentaria, enfermedad periodontal localizada, presencia de fístula, función del diente, signos de infección y como criterios radiográficos de fracaso: ligamento periodontal ensanchado (mayor de 2mm), aumento de tamaño de la rarefacción ósea, ausencia de reparación ósea, deficiencias en la condensación y extensión, sobre extensión excesiva y reabsorción radicular asociada a otra semiología (Siqueira y Rôças, 2008).

2.7.1 Microbiología en los fracasos endodóncicos

Es bien conocido que existen microorganismos resistentes a los agentes desinfectantes así como medicaciones de endodoncia incrementando el reto por eliminarlos por completo durante el tratamiento de endodoncia. En las infecciones endodóncicas se han detectado tanto especies gramnegativas como grampositivas. Estas especies se agrupan creando una biopelícula haciendo a las bacterias más difícil de eliminarlas utilizando agentes desinfectantes.

Las infecciones endodóncicas están dominadas por especies grampositivas así como anaerobios facultativas y obligados. Murad *et al.*, 2014 realizaron un estudio en el cual veintisiete (75%) de las 36 lesiones contenían organismos tales como *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Sphingomonas*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, o especies de *Candida*.

E. faecalis es la segunda especie bacteriana más comúnmente aislada en los fracasos endodóncicos (19%), bacteria grampositiva anaerobia facultativa, mientras que en los conductos infectados no tratados se encuentra en muy poca relevancia. Ha sido aislada tanto de infecciones primarias como de las secundarias y persistentes.

Murad *et al.*, 2002 en su estudio encontraron *E. faecalis* hasta en 33% de los casos estudiados. Es resistente a un pH cercano a 12, lo que las hace especialmente resistentes a la utilización de medicación intraconducto con hidróxido de calcio. Sin embargo, Evans *et al.*, han determinado la barrera de tolerancia en pH=11.1, hallando que a un pH superior a 11.5 *E. faecalis* no sobrevivía.

Las levaduras también se han encontrado como miembros de infecciones endodóncicas secundarias, persistentes o de tratamientos fallidos.

Estudios (Waltimo, 1997; Sundqvist, 1998) han reportado que la Familia fungi son resistentes a la terapias antimicrobianas, se ha demostrado que *Candida spp* es resistente a medicaciones comúnmente utilizadas en endodoncia incluyendo hidróxido de calcio.

2.8 Materiales Dentales en Endodoncia

Los objetivos principales de la terapia endodóncica son prevenir o eliminar la infección y obtener el sellado más completo posible del conducto radicular y de sus complejas irregularidades anatómicas (Cohen, 2008). La investigación ha demostrado que el concepto de cierre hermético es un ideal inalcanzable, aunque es importante desde varios puntos de vista. Por un lado evitará la penetración de fluidos periapicales y por lo tanto la reinfección del conducto. Por otro lado, impedirá el pasaje de componentes del material de obturación hacia el espacio periapical (Barceló, 2008).

2.8.1 Características y propiedades de los materiales para la obturación de los conductos radiculares

Tiempos de trabajo adecuados

El material ideal es el que brinda tiempo permitiendo la preparación, introducción dentro de los conductos radiculares así como la realización de una correcta técnica de obturación con la debida condensación, y una vez completadas estas operaciones, completa su endurecimiento lo más rápidamente posible (Abate, 1998).

Adaptación a las paredes del conducto radicular

Es fundamental que el espacio vacío en la interfaz conducto-obturación sea el menor posible para que resulte una obturación hermética. Para lograr una mayor interfaz con la mayor continuidad posible entre ambas estructuras es necesaria hidrofilia. Así como capacidad de sellado de conductos accesorios y secundarios (Viapiana, 2003).

Baja solubilidad y desintegración

La solubilidad se relaciona con la posibilidad que tiene un sólido de llegar a formar una sola fase en un determinado líquido. La desintegración consiste en la pérdida de masa de un sólido como consecuencia del ataque por parte de un líquido. Esta propiedad determina la estabilidad del material dentro del conducto radicular, en especial si está en contacto con los fluidos periapicales (Camargo, 2014).

Radiopacidad

Los materiales de uso en la obturación de conductos radiculares deben ser radiopacos. Existen especificaciones que determinan, por ejemplo, que la diferencia de radiopacidad entre la dentina o el hueso y el material de obturación, debe ser la que produce 2 mm de aluminio. La radiopacidad es una propiedad intensiva que está determinada por la composición del material. Las sustancias responsables de este efecto son elementos de alto peso atómico capaces de absorber la radiación Roentgen, por ejemplo, bario, cinc, bismuto, titanio, calcio, yodo y plata. Es importante que la radiopacidad sea ligeramente superior a la de la dentina (Cohen, 2008).

Acción antimicrobiana

Las principales alteraciones patológicas que llevan al tratamiento endodóncico son la caries y la enfermedad periodontal, ambas de etiología microbiana. Esto conduce a que el tratamiento endodóncico de las inflamaciones pulpares irreversibles así como las de necrosis pulpar requieran la eliminación del tejido enfermo, la limpieza y la antisepsia de los conductos radiculares así como la

obtención más hermética posible. Se ha demostrado la presencia de bacterias en la profundidad de los túbulos dentinarios aun luego del tratamiento. Por este motivo, los materiales para obturación endodóncica deben evitar su desarrollo para impedir la reinfección. Ya que no existe un material con características microbicidas es importante que posean un efecto microbio estático lo más duradero posible (García, 2013).

Biocompatibilidad

Los materiales que van a colocarse en contacto con los tejidos vitales, no deben producir irritación ni ningún tipo de reacción desfavorable o irreversible. Para determinar esta característica existen diferentes técnicas: evaluación *in vitro* sobre cultivos de tejidos, implantación de los materiales en diferentes tejidos en animales, estudios clínico-radiográficos e histológicos de la zona periapical de animales y seres humanos así como estudios inmunológicos. Se ha comprobado que todos los materiales tienen cierta acción irritante que está relacionada con la composición, propiedades reológicas (posibilidad de fluir antes de endurecer) y con la capacidad de respuesta del organismo. En el caso de materiales a base de óxido de zinc y eugenol la preparación de la mezcla respetando las indicaciones del fabricante respecto a la correcta dosificación asegura la mínima cantidad de eugenol libre lo que reduce la acción irritante (Barceló, 2008).

No producir cambios de color en el remanente dentario

Algunos elementos presentes en la composición de los materiales pueden producir oscurecimiento del remanente dentario. En el caso que se usen materiales que lo posean debe retirarse el resto del material de obturación de la cámara para evitar este efecto (Machii, 2009).

2.8.1 Clasificación

Los materiales pueden clasificarse de acuerdo con el estado en el que son llevados al interior del conducto. La mayoría de las técnicas de obturación están basadas en la utilización de combinación de material sólido y selladores dado que es imposible rellenar el conducto con un solo elemento que se adapte totalmente para tratar de completar la oclusión del conducto (Machii, 2009).

2.8.2 Materiales llevados en estado sólido: conos

Conos de gutapercha

La gutapercha es el exudado coagulado purificado de un árbol sapotáceo originario de las islas del Archipiélago Malayo y se ha utilizado en odontología desde el siglo XIX. Los preparados comerciales de gutapercha la presentan en combinación con otros productos, fundamentalmente con óxido de cinc. Para mejorar sus propiedades físicas se adicionan ceras, resinas y sulfatos metálicos, que le confieren radioopacidad. La proporción entre los componentes orgánicos (gutapercha, ceras, resinas) y los inorgánicos (óxido de zinc, sulfatos metálicos, colorantes y antioxidantes). Los conos de gutapercha usados como material de relleno de los conductos radiculares han mostrado estar compuestos de:

- Gutapercha (18.9 a 21.8 %)
- Óxido de zinc (56.1 a 75.3 %) = proporciona rigidez.
- Sulfatos de metales pesados como bario (1.5 a 17.3 %) = radiopacadores.
- Ceras y resinas (1 a 4.1 %) = plastificantes.

Siguen la norma ISO/FDI No. 6877. Existen puntas estandarizadas, con las mismas dimensiones que los instrumentos manuales, desde el calibre 15 al 140, y puntas accesorias, de mayor conicidad, para ser usadas como complemento en la técnica de la condensación lateral; sus dimensiones no siguen la estandarización de los instrumentos, aunque presentan unas dimensiones normalizadas (Colva, 2008). Las puntas de gutapercha son, en general, bien toleradas por los tejidos. Si

la punta se sitúa accidentalmente más allá del ápice del diente, puede ser bien tolerada.

2.8.3 Cementos selladores de conductos en endodoncia

La endodoncia es esencialmente una disciplina que se encarga de la prevención y control de la infección del canal radicular; los canales radiculares una vez limpios y conformados se deben obturar tridimensionalmente, eliminando espacios vacíos, el cual tiene el potencial de infectarse o ser reinfectado. Creando un sellado hermético apical, lateral y coronal. De esta manera la obturación del conducto radicular juega un papel importante tanto en la prevención como en control de infecciones endodóncicas (García, 2013).

La mayoría de técnicas de obturación utilizan materiales como gutapercha junto con un cemento sellador. El cemento sellador rellena las irregularidades del conducto radicular dejando menores discrepancias entre la pared del conducto radicular y la gutapercha. Se requiere de diversas propiedades en un cemento sellador ideal. Entre ellas habilidad para un sellado hermético, biocompatibilidad así como actividad antimicrobiana. Para crear y mantener un sellado tridimensional los cementos selladores deben poseer adhesividad, ser dimensionalmente estables, ser insoluble a los fluidos orales así como tener buena fluidez. Esta última propiedad permite al material penetrar en las irregularidades como en el istmo así como ramificaciones, lo cual incrementa un adecuado sellado del conducto radicular. Debido a sus propiedades óptimas de habilidad para fluir así como propiedades antimicrobianas, teóricamente los cementos selladores eliminan microorganismos localizados en zonas muy confinadas del conducto radicular (Zhou, 2013).

Los cementos selladores deben tener actividad antimicrobiana o al menos no propiciar el crecimiento de microorganismos. Los cementos selladores por su efecto antimicrobiano deberían ayudar a eliminar microorganismos que no se ven

afectados por los efectos de la preparación biomecánica así como de la medicación intraconducto. Además deben limitar el acceso de microorganismos de la saliva impidiendo o por lo menos retardando la contaminación del conducto radicular (Heyder, 2013).

Varios cementos selladores han demostrado tener efecto antimicrobiano, por ejemplo los que son a base de óxido de zinc y eugenol bien conocidos por su efecto antimicrobiano por la acción del eugenol. Otros a base de hidróxido de calcio conocidos por su actividad contra bacterias a través de la liberación de iones hidroxilo incrementando el pH alrededor de 12.5 (Akçay, 2014).

Los cementos se diferencian de las pastas porque endurecen o fraguan en el interior de los conductos radiculares. Se preparan siempre antes de iniciar la obturación, a diferencia de las pastas, que en general se comercializan como tales. El objetivo de los cementos es sellar la interfase existente entre el material núcleo de la obturación y las paredes dentinarias del conducto radicular, con la finalidad de conseguir una obturación del mismo en las 3 dimensiones del espacio, de forma hermética y estable. Por el hecho de que la finalidad de los cementos es sellar, con frecuencia se les denomina selladores (Omer, 1998).

2.8.4 Requisitos de un sellador

Grossman enumeró también 11 requisitos (Grossman, 1976) que debe reunir un buen sellador de conductos, a los que Ingle y West (Ingle y West, 1996) añadieron 2 más. Pueden citarse, por tanto, los siguientes requisitos:

1. Debe ser pegajoso, una vez mezclado, para adherirse tanto al material de núcleo como a las paredes de la dentina.
2. Ha de proporcionar un sellado hermético a los conductos obturados.
3. Conviene que sea suficientemente radioopaco para poder visualizarse en las radiografías.

4. Las partículas del cemento deben ser muy finas para poder mezclarse bien con el líquido.
5. No debe contraerse al endurecer o fraguar.
6. Es conveniente que no tiña los tejidos dentales.
7. Debe ser bacteriostático.
8. Debe fraguar con suficiente lentitud, para poder realizar la técnica de obturación con los ajustes necesarios.
9. Ha de ser insoluble en los fluidos hísticos.
10. Debe ser biocompatible, es decir, bien tolerado por los tejidos vitales.
11. Tiene que poder solubilizarse en los solventes habituales, para poder eliminarlo de los conductos radiculares si fuera necesario.
12. No ha de generar una reacción inmunitaria al ponerse en contacto con el tejido periapical.
13. No debe ser mutagénico, ni carcinogénico (Canaldas, 2014).

Capítulo 3

3.1 Antecedentes

Siqueira *et al*, 2000 realizaron un estudio in vitro mediante el método de difusión en agar en el cual se evaluó la actividad antimicrobiana de cuatro cementos endodoncicos; dos a base de resina epóxica, uno a base de resina, dos cementos endodoncicos a base de óxido de zinc y eugenol, sobre nueve diferentes especies de microorganismos entre ellas *Candida albicans* y *E. faecalis* obteniendo como resultado que las bacterias más resistentes fueron *Pseudomona aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* y *E. coli*; los cuales concuerdan con el ensayo de Mickel *et al.*, 2003 quienes evaluaron la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar de cuatro cementos selladores: Sealapex, Roth 811, Kerr EWT y AH plus sobre *E. faecalis*. En donde AH plus no tuvo actividad antimicrobiana sobre *E. faecalis*; y el cemento sellador que más actividad antimicrobiana tuvo sobre *E. faecalis* fue Roth 811(a base de óxido de zinc y eugenol) con una zona de inhibición de 1.1 mm, seguido por sealapex (hidróxido de calcio) con 0.8 mm y Kerr EWT (óxido de zinc y eugenol) con 0.5 mm. Debido a ello, los esfuerzos de estudiar la incorporación de agentes antimicrobianos capaces de potencializar el efecto inhibitorio de microorganismos; Gjorgievska *et al.*, 2012 incorporaron agentes antimicrobianos a cinco cementos selladores experimentales endodoncicos a base de hidróxido de calcio, de resina así como óxido de zinc y eugenol; demostrando que en todos se logró potenciar el efecto antimicrobiano sin embargo el cemento a base de óxido de zinc y eugenol fue el único que presentó actividad antimicrobiana sobre todas las especies estudiadas. Se condujo un estudio clínico y radiográfico en el cual se comparó la eficacia de varios cementos que en su composición tienen óxido de zinc y eugenol *versus* cementos selladores que en su composición no llevan óxido de zinc y eugenol. En 48 dientes anteriores con diagnóstico de necrosis pulpar, que mostraban radiográficamente una zona radiolúcida de 1 – 7 mm de diámetro. Se llevaron a cabo citas de control a los 30, 90, 150 y 210 días. En la examinación radiográfica a los 210 días se encontró que

los cementos que contienen óxido de zinc y eugenol en su composición mostraron disminución de la zona radiolúcida de 4.39mm a 1.80mm y los que no poseen óxido de zinc y eugenol en su composición demostraron poca disminución de la zona radiolúcida teniendo que de 3.0mm disminuyó hasta 2.15mm. A la examinación clínica los dos grupos resultaron exitosos al 100% (Bal, 1990).

En la actualidad con la incorporación de la nanotecnología en la odontología se ha hecho la incorporación de nanopartículas en cementos obturadores endodoncicos que incrementan el área de la superficie entre la dentina y el material sellador permitiendo mayor adaptación del material y de esta manera poseen mayor efecto antimicrobiano en comparación de las macropartículas (Jain *et al*, 2013).

3.1.1 Agentes antimicrobianos

3.1.2 Quitosán

Polisacárido que se obtiene de la diacetilación de la quitina y presenta excelentes propiedades biológicas tales como ser biocompatible, biodegradable, hidrofílico, presentar afinidad celular, así como poseer propiedades que mejoran el proceso de cicatrización. Debido a sus propiedades, el quitosán ha sido ampliamente utilizado, en cosméticos, empaques de alimentos, materiales de agricultura así en el área biomédica. En el campo de la odontología, un ejemplo es el desarrollo de membranas para uso en cirugía periodontal (**Figura 5**) (Shrestha *et al*, 2013).



Figura 5. Membranas para cirugía periodontal (Fotografía cortesía de la Esp. Isabel Serrano Díaz).

3.1.3 Triclosán

El triclosán es un derivado fenólico antibacteriano liposoluble, ampliamente utilizado en bienes de consumo por su amplio espectro antimicrobiano. A bajas concentraciones el triclosán afecta el crecimiento bacteriano inhibiendo la enzima Enoil-ACP reductasa necesaria para la biosíntesis de la capa lipídica bacteriana. En altas concentraciones es bactericida, posiblemente debido al daño que ocasiona en la membrana celular. Ha sido incorporado en productos para el cuidado personal de uso diario entre ellos: desodorantes y jabones, además de que ha sido impregnado en plásticos y textiles. En el área odontológica ha sido incorporado en dentífricos y colutorios bucales ya que se ha observado que triclosán disminuye los niveles de placa dentobacteriana, así como inflamación gingival por su actividad bacteriostática sobre los microorganismos orales (**Figura 6**) (Takenaka, 2012).

Triclosan

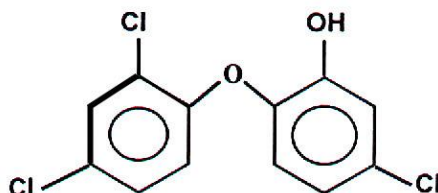


Figura6. Fórmula química del triclosán (Disponible en URL :<http://www.drugs.com/ingredient/triclosan.html> (19/10/15).

3.1.4 Terbinafina

Es un potente antifúngico que la Food and Drug Administration (FDA) recomienda para uso en infecciones de uñas y de piel ya que tiene amplio espectro contra levaduras, dermatofitos y hongos. Su mecanismo de acción se lleva a cabo inhibiendo la enzima escualeno epoxidasa en la biosíntesis del ergosterol del hongo promoviendo la acumulación intracelular de escualeno la cual compromete la integridad de la pared celular. La terbinafina se encuentra disponible en presentaciones de tabletas, cápsulas y gránulos orales (**Figura 7**). Estudios previos, han demostrado que es altamente efectiva ante especies de *Candida* (Allevato, 2007).

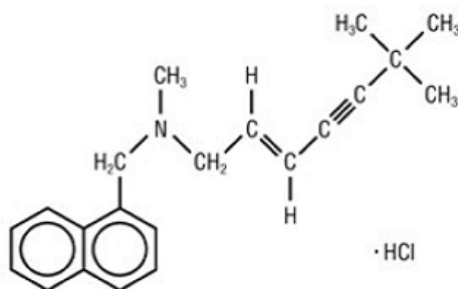


Figura 7. Terbinafina en presentación de tabletas para tratamiento de micosis. (Disponible en la URL: [http://wellcopharma.com/2010/12/terbifin-tableta/\(19/10/15\)](http://wellcopharma.com/2010/12/terbifin-tableta/(19/10/15)))

3.1.5 Nanopartículas de plata (AgNPs)

Recientemente, la nanotecnología se ha expandido en el área de investigación debido a sus propiedades físicas y químicas de los materiales a nanoescala. Los nanomateriales se han utilizado para crear nuevos productos de consumo así como en la ciencia y biotecnología. Químicamente las nanopartículas son diversas. La síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) ha obtenido interés debido a sus extensas aplicaciones como: electrónica, aparatos electrónicos así como agentes antimicrobianos. Sus propiedades antimicrobianas y biocompatibles

son aprovechadas en el área biomédica adicionándolas en vendas, apósitos, pomadas además se utilizan para prevenir la colonización bacteriana en superficies como catéteres, prótesis y ropa. En el área odontológica se ha adicionado en diversos materiales dentales han con probado efecto inhibitorio ante levaduras y bacterias (**Figura 8**) (Jain *et al*, 2013).



Figura 8. Diversos materiales de uso común del área biomédica han sido adicionados con nanopartículas de plata con probado efecto antimicrobiano. Disponible en URL: <http://www.dentalnorte.com/node/320>

3.1.6 Yodoformo

Yodoformo (CHI_3) agente antimicrobiano que tiene alto peso molecular además de presentar propiedades de radiopacidad. En odontología, la mezcla de hidróxido de calcio y yodoformo como pasta, ha sido utilizada exitosamente por mucho tiempo en la terapia de conductos radiculares para controlar infecciones de conducto radicular necrótico así como coadyuvante en el proceso de reparación de los tejidos periapicales (**Figuras 9 y 10**); (Han, 2001).



Figura 9. En la zona del diente 14 una zona radiolúcida, a las pruebas térmicas responde negativo tanto a calor como a frío así como positivo a pruebas de percusión teniendo como diagnóstico pulpar necrosis pulpar y periapical periodontitis apical sintomática. Por lo que se indica necropulpectomía. Entre citas se colocó medicación intraconducto a base de hidróxido de calcio adicionado con yodoformo.



Figura 10. En la imagen se puede observar una menor zona radiolúcida periapical al término del tratamiento de conductos del diente 14 (Fuente directa).

Capítulo 4

4.1 Planteamiento del problema

Una problemática en los dientes tratados endodóncicamente, es la presencia de infecciones recurrentes que llevan a realizar retratamientos de conductos, (Siqueira, 2008) reduciendo el tiempo de vida de los dientes. La principal causa de estas infecciones es el tipo de microorganismos presentes en la biopelícula de la dentina de los conductos radiculares. Datos epidemiológicos demuestran altos índices de radiolucencias periapicales asociadas con dientes previamente tratados endodóncicamente, de 25 a 40 % de los casos; radiolucidez que frecuentemente se asocia a fracaso endodóncico (Gutmann, 2004).

El éxito del tratamiento endodóncico varía entre 54% - 96%, la gran variación se atribuye a la experiencia del clínico, la técnica utilizada así como el diagnóstico del diente. Se ha reportado hasta 96% de éxito de terapias pulpares en dientes no vitales o vitales sin radiolucidez periapical y de 86% para dientes con pulpa no vital con radiolucidez periapical. Sin embargo, un índice de 62% para dientes retratados endodóncicamente. A pesar de los protocolos de irrigación, la conformación del conducto así como medicación intraconducto existen bacterias resistentes a la terapéutica de los conductos radiculares (Ricucci & Siqueira, 2008). De ahí surge la importancia de emplear de la mejor manera los recursos disponibles para la terapéutica pulpar así como materiales utilizados entre estos, cemento sellador de conductos. Una de las posibles alternativas, es la adición de partículas antimicrobianas al cemento sellador de los conductos radiculares.

En el presente estudio evaluamos el efecto antimicrobiano de agentes antimicrobianos yodoformo, quitosán, triclosán, terbinafina y nanopartículas de plata (AgNPs) a diferentes concentraciones con la finalidad de identificar propiedades antimicrobianas si se adicionan a un cemento sellador endodóncico a base de óxido de zinc y eugenol.

4.2 Justificación

Los cementos selladores en endodoncia se emplean para prevenir la recolonización de las bacterias residuales llenando los espacios que quedan entre el principal material sellador y las paredes del conducto radicular (Lioni, 2010). Estudios han demostrado que los microorganismos son la mayor causa de fracaso endodónico. *E. faecalis* es el microorganismo con más frecuencia encontrado con un rango de 29% a 77 (Love, 2001). La literatura referente al papel de los microorganismos en la enfermedad pulpar y periapical se ha centrado en la presencia, patogenicidad y eliminación de las bacterias. Sin embargo, existe evidencia que indica la presencia fungi en el conducto radicular; especialmente se ha demostrado mediante microscopía electrónica la existencia de *Candida albicans* en el espacio del conducto radicular así como periapical demostrando presencia (Siqueira, 2002). Por lo antes mencionado si encontramos la manera de adicionar agentes antimicrobianos al cemento endodónico que sean efectivos ante microorganismos clave de fracasos endodónicos, podríamos ofrecer efecto benéfico en cuanto a mejorar el pronóstico al paciente con problemas de fracaso endodónico.

4.3 Objetivo general

Obtener un cemento sellador endodónico a base de óxido de zinc y eugenol con micropartículas de terbinafina, triclosán, yodoformo, quitosán o nanopartículas de plata (AgNPs) en la inhibición de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.

4.4 Objetivos específicos

1. Caracterizar mediante FT-IR, SEM y TEM las partículas de los agentes antimicrobianos.
2. Analizar el efecto inhibitorio de diferentes formulaciones del cemento sellador experimental en cultivos de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.
3. Evaluar la citotoxicidad de los cementos selladores experimentales

4.5 Pregunta de investigación

¿Qué tanto efecto antimicrobiano tiene un cemento sellador endodónico a base de óxido de zinc y eugenol adicionado con yodoformo, triclosán, quitosán, terbinafina y nanopartículas de plata ante *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*?

4.6 Hipótesis

El uso de agentes antimicrobianos (yodoformo, triclosán, quitosán, terbinafina y nanopartículas de plata) en la obtención de un cemento sellador endodónico a base de óxido de zinc y eugenol inhibe el crecimiento de *Candida albicans*, y *Enterococcus faecalis*.

Capítulo 5

5.1 Tipo de estudio

Estudio experimental, transversal.

5.2 Universo de estudio

- I. Agentes antimicrobianos: Micropartículas de triclosán, terbinafina, yodoformo, quitosán y nanopartículas de plata.
- II. Microorganismos: cepas de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*

5.3 Variables dependientes

- I. Inhibición de crecimiento microbiano de cada agente antimicrobiano.
- II. Citotoxicidad de las formulaciones de cemento sellador de conductos.

5.4 Variables independientes

Agentes antimicrobianos al 10, 5, 2 y 1%: triclosán, yodoformo, terbinafina, quitosán y nanopartículas de plata sintetizadas en el laboratorio de biomateriales de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León.

5.5 Criterios de inclusión

- I. Cultivos microbianos sembrados uniformemente.
- II. Agentes antimicrobianos: micropartículas de triclosán (**Figura 10**), yodoformo (**Figura 11**), quitosán (**Figura 12**), terbinafina (**Figura 13**) y nanopartículas de plata (**Figura 14**).
- III. Cemento endodónico a base de óxido de zinc y eugenol.
- IV. Microorganismos: *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*

5.6 Criterios de exclusión

- I. Formulaciones de cementos endodóncicos diferentes al cemento a base de óxido de zinc y eugenol.
- II. Agentes antimicrobianos diferentes a los mencionados en los criterios de inclusión.
- III. Microorganismos diferentes a los mencionados en los criterios de inclusión.

5.7 Criterios de eliminación

- I. Cepas de cultivos contaminados
- II. Discos de cemento sellador con superficies irregulares
- III. Cajas Petri con superficies irregulares o áreas no sembradas en el agar.
- IV. Agar desgarrado

5.8 Método

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de investigación interdisciplinaria de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León del área de Biomateriales dentales.

1. Se caracterizaron los agentes antimicrobianos: yodoformo, quitosán, triclosán y terbinafina mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y las nanopartículas de plata mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM); y Espectroscopía de Infrarrojo (FT-IR) para confirmar los grupos funcionales presentes.



Figura 10. Triclosán
(Fuente directa)

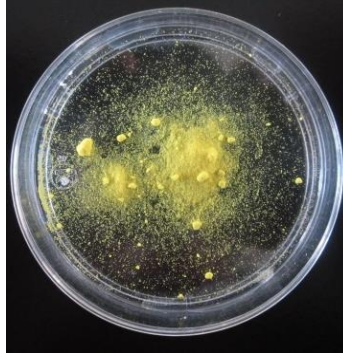


Figura 11. Yodoformo
(Fuente directa)



Figura 12. Quitosán
(Fuente directa)



Figura 13. Terbinafina
(Fuente directa)



Figura 14. AgNPs
(Fuente directa)

2. Se obtuvieron cementos selladores experimentales con agentes antimicrobianos adicionados al cemento sellador endodoncico a base de óxido de zinc y eugenol (Silco[®]) (**Figura 15**); proponiendo 5 grupos experimentales con 10, 5, 2 y 1% de cada agente antimicrobiano como se muestra en la Tabla 3. Cada grupo se mezcló hasta obtener una consistencia ideal a cuando se obtura el conducto radicular en una terapia de conductos radiculares convencional de manera filamentosa y homogénea.

Tabla 4. Peso y dosis de agentes antimicrobianos utilizados en el estudio.

			10%	5%	2%	1%
	Cemento sellador a base de ZOE	Eugenol	Antimicrobiano (0.009 g)	Antimicrobiano (0.0045 g)	Antimicrobiano (0.0018 g)	Antimicrobiano (0.0009 g)
Grupo 1	0.09 g	0.028 g	yodoformo	yodoformo	yodoformo	yodoformo
Grupo 2	0.09 g	0.028 g	quitosano	quitosano	quitosano	quitosano
Grupo 3	0.09 g	0.028 g	terbinafina	terbinafina	terbinafina	terbinafina
Grupo 4	0.09 g	0.028 g	triclosàn	triclosàn	triclosàn	triclosàn
Grupo 5	0.09 g	0.028 g	AgNPs	AgNPs	AgNPs	AgNPs

Grupo 1: Cemento endodónico a base de ZOE + terbinafina

Grupo 2: Cemento endodónico a base de ZOE + triclosàn

Grupo 3: Cemento endodónico a base de ZOE + yodoformo

Grupo 4: Cemento endodónico a base de ZOE + quitosàn

Grupo 5: Cemento endodónico a base de ZOE + AgNPs



Figura 15. Cemento sellador endodónico a base de óxido de zinc y eugenol (Fuente directa).

3.- El ensayo antimicrobiano se llevó a cabo mediante el método de difusión en agar (n=4) (**Figura 16**); en cultivos de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.

El análisis antifúngico se llevó a cabo en placas de agar Dextrosa Sabouraud, se inoculó *Candida albicans* (120 µL) en escala de 0.5 McFarland y fueron preparadas muestras de cemento sellador endodónico a base de Óxido de Zinc y Eugenol (Silco^R); (n=4); los cuales se colocaron en discos de papel en contacto con los microorganismos. Cada grupo experimental se incubó durante 48 h y posterior a este tiempo la zona de inhibición de crecimiento fue medida. Se

llevaron a cabo tanto control positivo (anfotericina B) como control negativo (agua destilada).

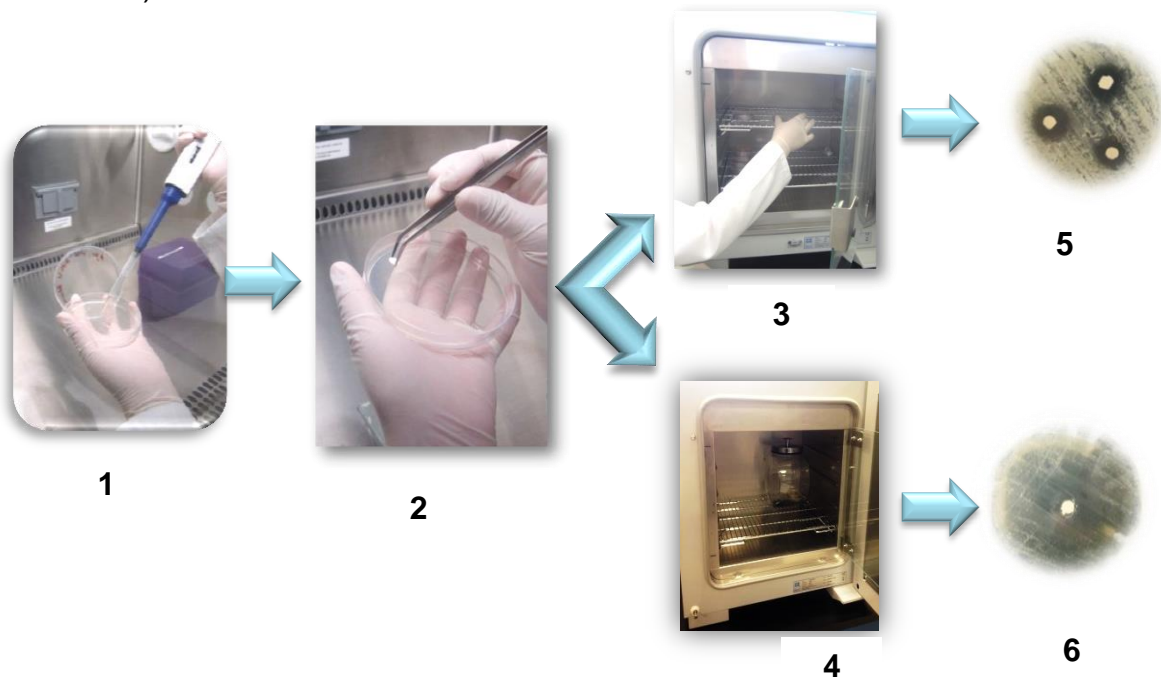


Figura 16. Ensayo de difusión en agar. 1) Inoculación de 120 μ L de microorganismo, 2) Colocación de discos con cemento experimental, 3) Incubación de *Candida albicans*, 4) Incubación de *Enterococcus faecalis* condiciones de anaerobiosis, 6) Resultados a 24 horas (Fuente directa).

4.- Evaluación de citotoxicidad

Los ensayos de citotoxicidad de los agentes antimicrobianos se llevaron a cabo siguiendo el protocolo del ensayo de MTT y utilizando la línea celular de fibroblastos NIH-3T3 (ATCC CRL-1658) (**Figura 17**). El comportamiento de los cementos selladores fueron evaluados a las 24 h.

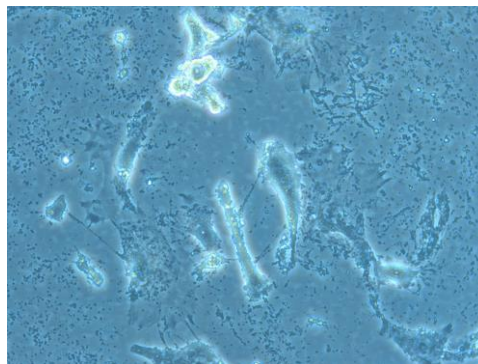


Figura 17. Micrografía de fibroblastos NIH-3T3 (ATCC CRL-1658)(Fuente directa).

Día 1, se agregó la tripsina (5 mL) a los cultivos celulares. Se centrifugó en un tubo falcon de 15 ml a 500 rpm (400 x g) por 5 minutos. Se removió el medio y se resuspendieron las células (1 mL) en solución MTT. Se contaron las células por mL. Se diluyeron para obtener 75 000 células por mL. En placas de 24 pozos, se agregaron 1000 µL (7,500 células totales) por pozo y se incubaron por la noche durante 24 h.

Día 2, el medio de cultivo fue renovado, se colocaron los cementos selladores experimentales en cada pozo y las células se mantuvieron en incubación durante 24 h.

Día 3, Las muestras de cemento sellador fueron retiradas y se agregaron 20 µL de (5 mg/mL) de solución MTT a cada pozo incluyendo el grupo control. Se incubaron por 3.5 horas a 37 °C. Se removió el medio y se agregaron 150 µL de disolvente de MTT (dimetil sulfóxido; DMSO), se agitaron por 15 minutos. Una alícuota de cada pozo se colocó en una placa de 96 pozos para tomar la lectura en un Espectrofotómetro de UV-Vis a una absorbancia de 590nm, para obtener valores de densidad óptica (D.O).

Los valores de densidad óptica fueron utilizados para calcular el porcentaje de viabilidad celular de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Viabilidad celular} = \frac{\text{D.O del grupo experimental}}{\text{promedio de D.O del grupo control}} \times 100$$

En donde D.O representa la densidad óptica.

5.-Análisis de resultados.

a) Inhibición microbiana: Los datos mediante el software Tps Versión 2 para la medición de las zonas de inhibición (**Figura 18**). Para analizar estadísticamente los resultados obtenidos se aplicará ANOVA de Una Vía, en cuyo caso se considerarán resultados estadísticamente diferentes aquellos con un valor de $P < 0.05$, después de la prueba *Poshoc de Tukey*.

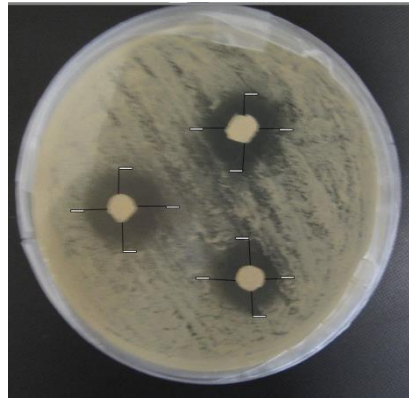


Figura 18. Cuatro puntos fueron medidos de las zonas de inhibición de cada disco (Fuente directa).

b) Citotoxicidad: Los resultados de la evaluación de viabilidad celular fueron analizados aplicando ANOVA de Una Vía ($P < 0.05$) y Tukey test.

Capítulo 6

6.1 Resultados

1.- Se caracterizaron los agentes antimicrobianos: yodoformo, quitosán, triclosán y terbinafina mediante Microscopia Electrónica de Barrido (SEM), (**Figuras19-23**) y nanopartículas de plata mediante Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM), (**Figura 23**); y Espectroscopia de Infrarrojo (FT-IR), (**Figuras19-23**); en las cuales se observan los grupos funcionales de cada agente antimicrobiano confirmando su naturaleza.

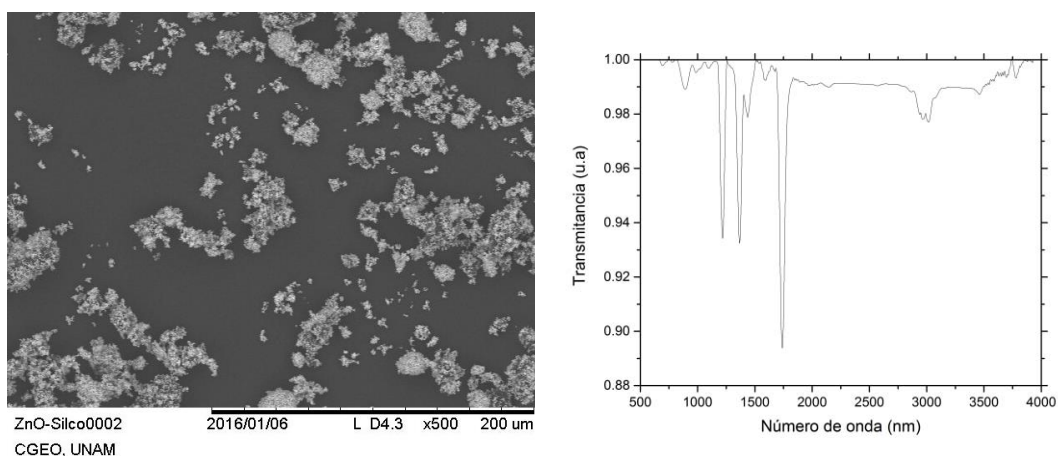


Figura 19. Partículas de óxido de zinc (Silco) donde se observa una forma irregular con un tamaño aproximado de 1 μm.

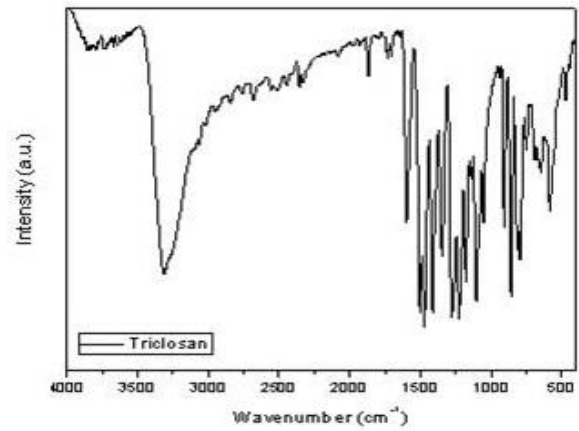
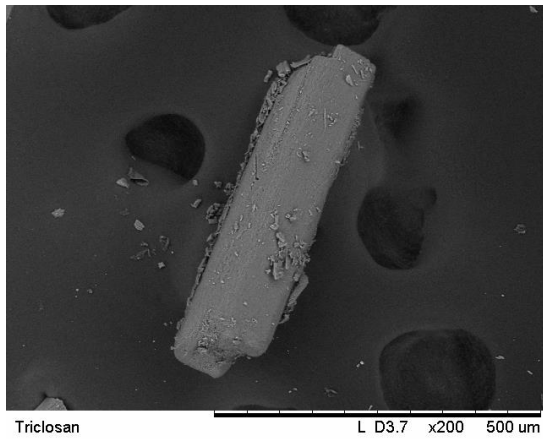


Figura 20. Partículas de triclosán donde se observa una forma alargada con un tamaño de 15-50 μm .

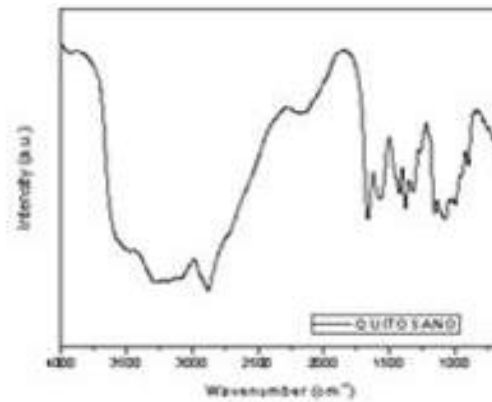
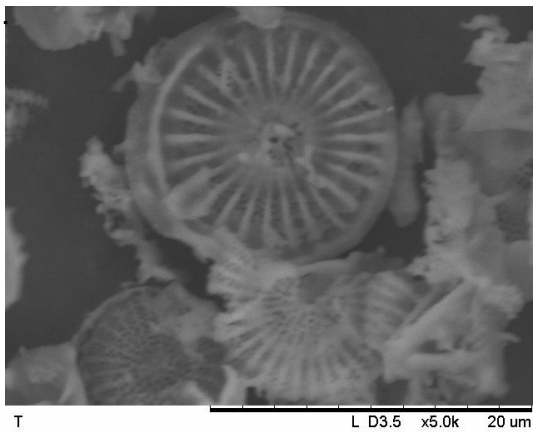


Figura 21. Partículas de quitosán donde se observa un tamaño de 15-50 μm

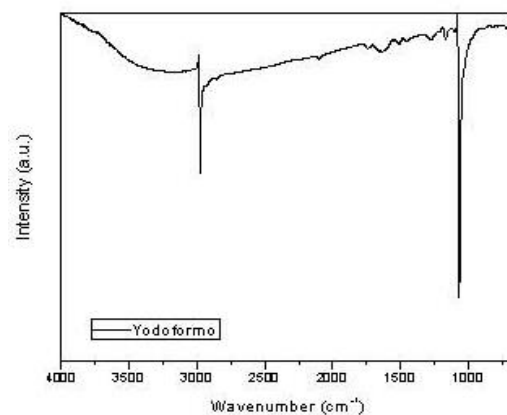
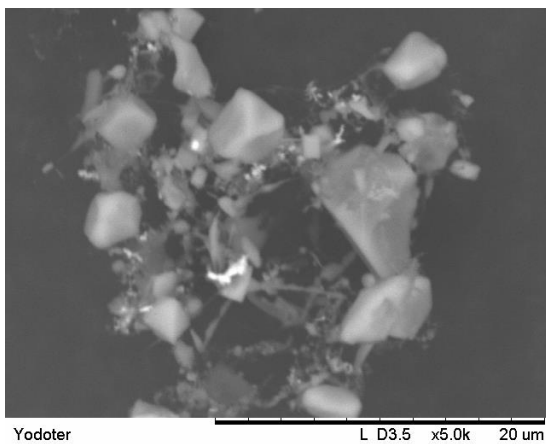


Figura 22. Partículas de yodoformo con un tamaño de 10-40 μm y de forma asimétrica.

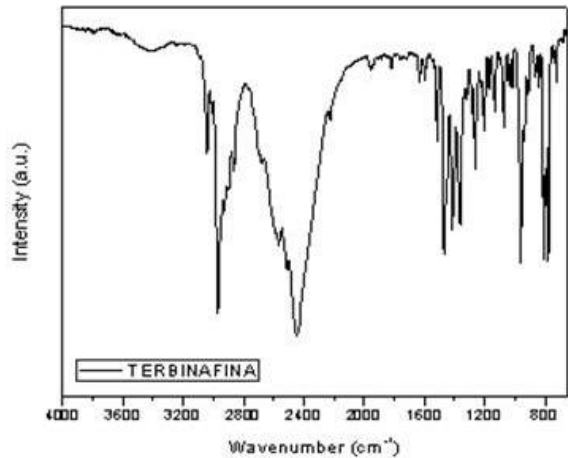
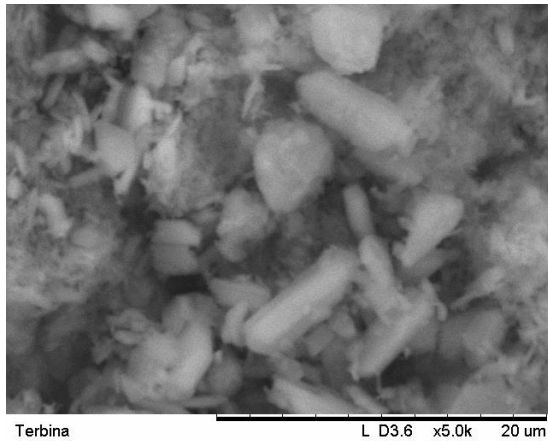


Figura 23. Partículas de terbinafina donde se observa una morfología irregular con un tamaño de 5-10 μ m

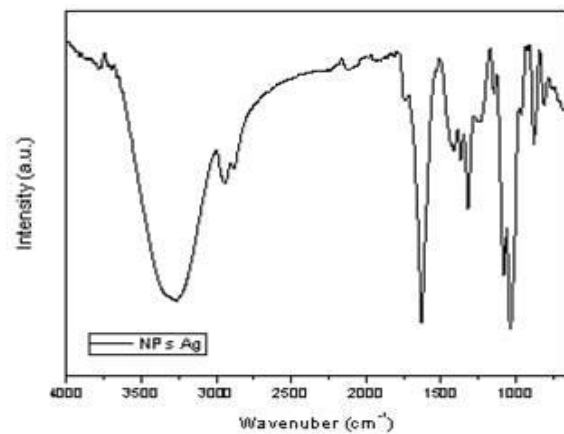
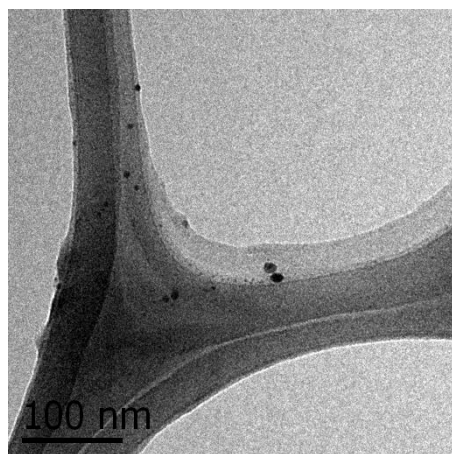
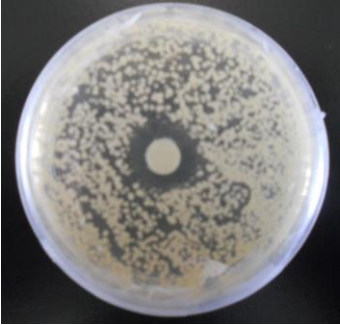
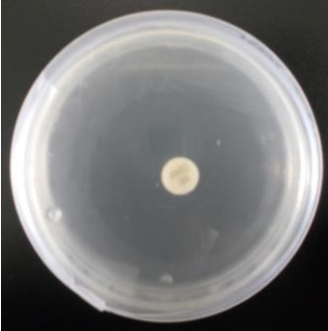
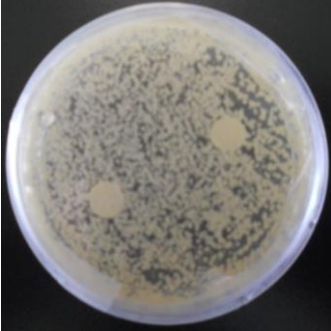
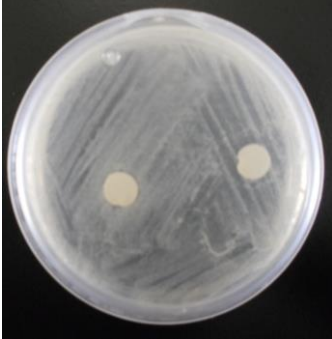


Figura 24. Nanopartículas de plata donde se observa una morfología esférica con un tamaño de partícula 10-25 nm.

2. Se obtuvieron cementos selladores experimentales con agentes antimicrobianos adicionados al cemento sellador endodoncico a base de óxido de zinc y eugenol (Silco^R); formando 5 grupos experimentales con 10, 5, 2 y 1 % de cada agente antimicrobiano asi como los controles negativos y positivo para cada microorganismo . Se llevó acabo el ensayo antimicrobiano mediante el método de difusión en agar tanto para *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.

Tabla 5. Fotografías representativas del ensayo antimicrobiano

	<i>Candida albicans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Control positivo	 <p>Figura 25. <i>C. albicans</i> + agua destilada.</p>	 <p>Figura 26. <i>E. faecalis</i> + agua destilada.</p>
Control negativo	 <p>Figura 27. <i>C. albicans</i> + agua destilada.</p>	 <p>Figura 28. <i>E. faecalis</i> + agua destilada.</p>

Imágenes representativas
de zonas inhibición

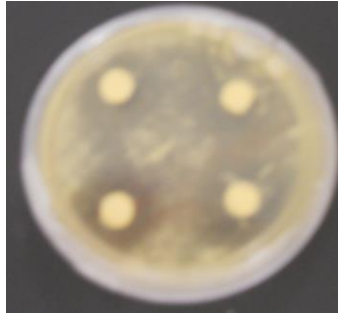


Figura 29. *C. albicans*
+ óxido de zinc y
eugenol con quitosán.

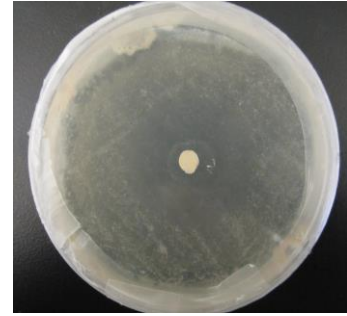


Figura 30. *E. faecalis*
+ óxido de zinc y
eugenol con quitosán.

Representativas de zonas
inhibición

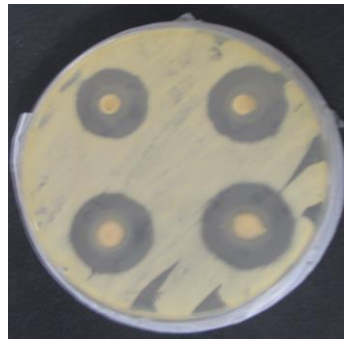


Figura 31. *C. albicans*+ óxido de
zinc con yodoformo.

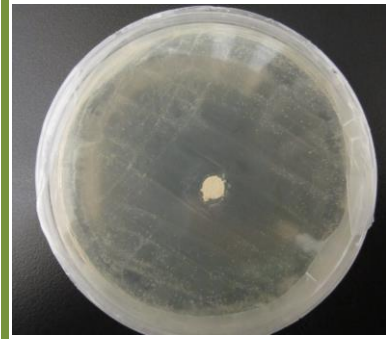


Figura 32. *E. faecalis* +
óxido de zinc y eugenol
y yodoformo.

3.-Se llevó acabo el análisis de datos mediante el software Tps Versión 2 para la medición de las zonas de inhibición en las cuales se midieron 4 puntos por cada disco. Para analizar estadísticamente los resultados obtenidos se aplicó ANOVA de Una Vía, ($P < 0.05$).

A los resultados se muestra en el grupo de *Candida albicans* que el cemento experimental adicionado con yodoformo obtuvo las mayores zonas de inhibición a excepción del grupo del 2% el cual obtuvo mayor zona de inhibición con el cemento sellador experimental adicionado con terbinafina; seguido del cemento sellador experimental adicionado con quitosán en todos sus porcentajes de concentración.

Los resultados de los cementos selladores experimentales en la inhibición de *Enterococcus faecalis* del cemento sellador adicionado con terbinafina y quitosán a todos su porcentajes obtuvieron las mayores zonas de inhibición.

En cuanto a controles positivos se utilizaron Anfotericina B para *Candida albicans* y Amoxicilina con ácido clavulánico para *Enterococcus faecalis*. Como se observa en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados al ensayo de difusión en agar.

Microorganismo	Grupo	ZOE + triclosán	ZOE + quitosán	ZOE+ AgNPs	ZOE + yodoformo	ZOE + terbinafina	Control +
<i>Candida albicans</i>	10%	11.84±3	14.85±2	9.33±1	21.39±2	10.58±2	Anfotericina B 29.25 ± 3
	5%	12±2	15±2	9.2±1	21±2	11±2	
	2%	3.43±3	4.79±3	2±1	5.47±2	9.70±3	
	1%	0.17±0.04	0.30±0.05	0.15±0.04	0.37±0.08	0.25±0.05	
	Cemento ZOE			1.06±0.36			
<i>Enterococcus faecalis</i>	10%	4.39±2	7.8±4	3.8±2	3.32±4	11.19±4	Amoxi.+/ ácido clavulánico 18.82 ± 0.3
	5%	2.20±2	5.18±3	2.26±1	2.74±2	6.15±3	
	2%	.88±.04	2.1±0.8	0.91±0.4	0.34±0	2.5±1	
	1%	0.31±0.05	0.22±1	0.22±0.5	0.21±0.04	0.32±13	
	Cemento ZOE			1.51±0.31			

4.- Se evaluó la citotoxicidad de los cementos selladores adicionados con el agente antimicrobiano a los porcentajes del 1, 2 ,5 y 10 % siguiendo el protocolo del ensayo de MTT y utilizando la línea celular de fibroblastos NIH-3T3 (ATCC CRL-1658); (**Figuras 32 a 35**).

Evaluación de la Viabilidad celular empleando los diferentes agentes al 10%

Se muestra que todos los cementos selladores adicionados con los agentes antimicrobianos muestran ser citotóxicos a esta concentración en general observando una viabilidad celular menor de 50% en comparación de nuestro control en el cual observamos viabilidad del 100%.

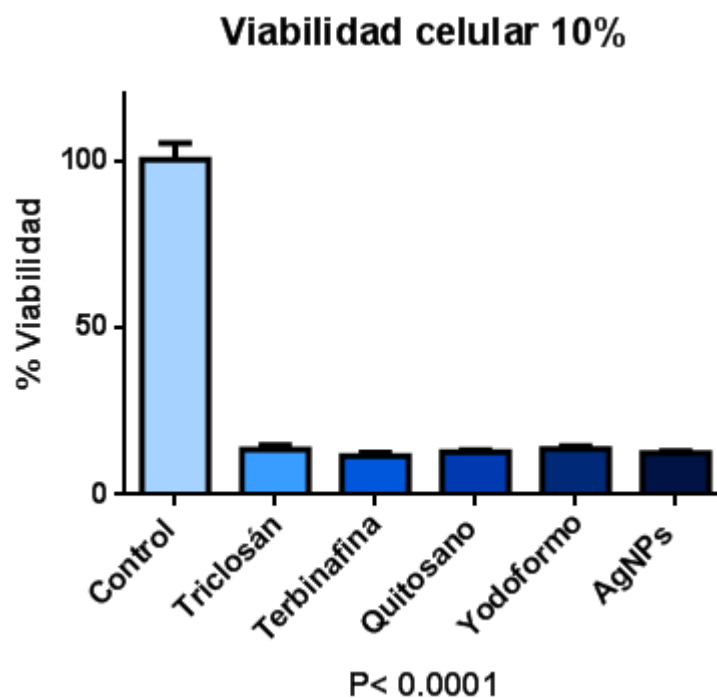


Figura 33. Gráfica representativa del ensayo de MTT de cementos selladores experimentales adicionado con agentes antimicrobianos al 10%.

Evaluación de la Viabilidad celular empleando los diferentes agentes al 5%

En este porcentaje los resultados muestran valores de citotoxicidad de los cementos selladores experimentales adicionados con los agentes antimicrobianos aceptables mayores al 50% siendo así yodoformo y las nanopartículas de plata los grupos mas viable a diferencia de la terbinafina como se observa en la **Figura 33**.

Viabilidad celular de cemento sellador 5%

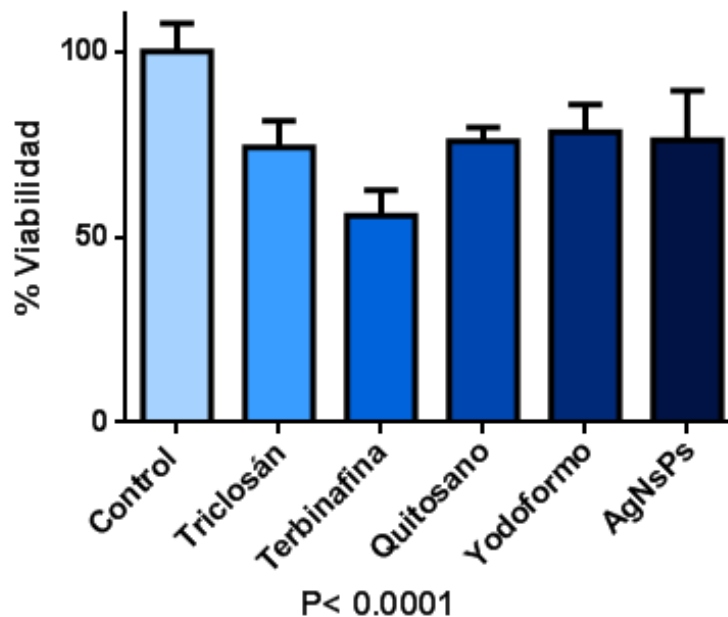


Figura 34. Gráfica representativa del ensayo de MTT de cementos selladores experimentales adicionado con agentes antimicrobianos al 5%.

Evaluación de la Viabilidad celular empleando los diferentes agentes al 2%

Los resultados demuestran Citotoxicidad de un rango de entre 30 al 20% en general de todos los grupos experimentales demostrando buena viabilidad celular a excepción de la terbinafina.

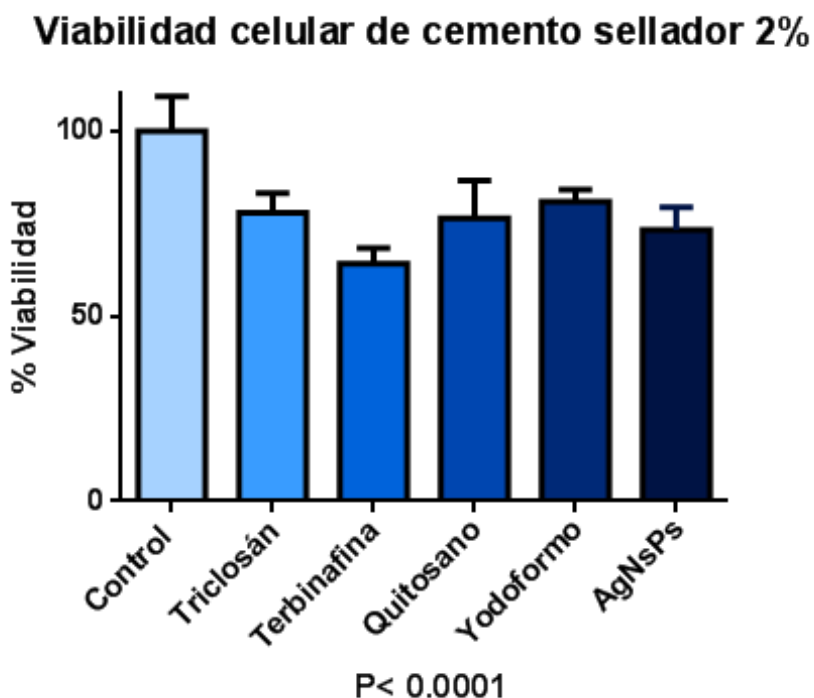


Figura 35. Gráfica representativa del ensayo de MTT de cementos selladores experimentales adicionado con agentes antimicrobianos al 2%.

Evaluación de la viabilidad celular empleando los diferentes agentes al 1%

En este grupo de cementos selladores con los agentes antimicrobianos se observa un comportamiento homogéneo en cuanto viabilidad celular de todos los grupos siendo el mas viable el grupo del cemento sellador adicionado con quitosán seguido por el triclosán, yodoformo, AgNsP y por último el grupo de la terbinafina.

Viabilidad celular de cemento sellador 1%

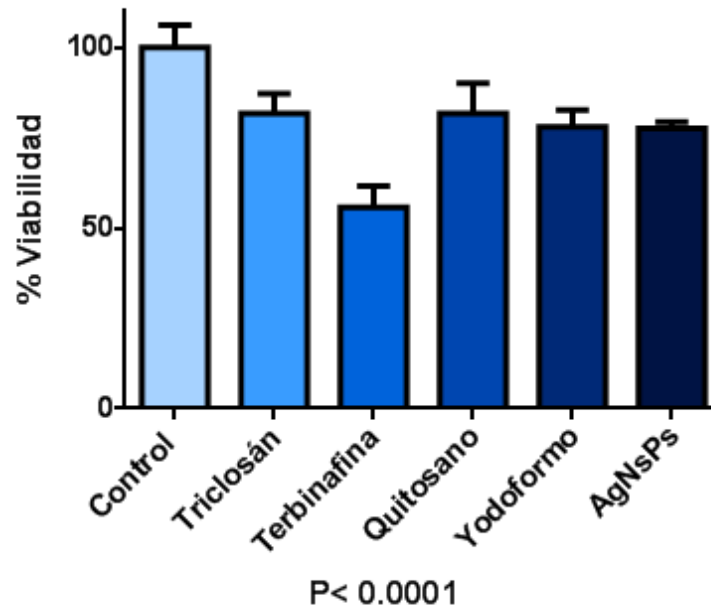


Figura 36. Gráfica representativa del ensayo de MTT de cementos selladores experimentales adicionado con agentes antimicrobianos al 1%.

6.2 Discusión

La actividad antimicrobiana es una propiedad de gran utilidad en los materiales dentales y en específico en los cementos selladores de endodoncia (Grossman, 1958). Esta propiedad a su vez aumenta el buen pronóstico en el tratamiento dental. Evitando recurrir a tratamientos dentales mas invasivos como la cirugía periapical o inclusive en el peor de los casos la perdida dental mediante extracción. En el presente estudio se trabajó con un cemento sellador a base de óxido de zinc y eugenol debido a que diversos estudios realizados Siqueira *et al*, 2000, Mickel *et al.*, 2003 con diversos cementos selladores a base de hidróxido de calcio, de resina reportan que de todos los probados se han tenido mejores resultados con los que son a base de óxido de zinc y eugenol ante bacterias tales como que son de gran importancia en el área de Endodocica. En especial *Enterococcus faecalis* la cual se ha reportado como una de las principales en los tratamientos con fracaso endodontico en estudios realizados por Duggan *et al* 2007, Li *et al*, 2012, por mencionar algunos ;cabe mencionar que también se han encontrado microorganismos de tipo levaduras como en el estudio de en el cual encontró que *Candida albicans* se encontraba Nair *et al.*, 1990 encontró levaduras en dos de nueve biopsias de cirugías con lesión periapical, Waltimo *et al.*, 1998 reportaron la incidencia fungosa en 7% de lesiones persistentes de infecciones radiculares siendo *C. albicans* la mas común. Otras especies fungosas encontradas *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicu*. Sundqvist *et al.*1998 isolaron *C. albicans* en 2 de 24 canales radiculares de dientes con tratamiento de endodoncia fallido relacionado a lesión periapical persistente así como Molander *et al.*, 1998 encontraron *C. albicans* en 3 de 68 dientes con lesión perirradicular. En el presente estudio se utilizaron concentraciones diferentes de los agentes antimicrobianos y se observó que las mejores concentraciones son al 2 y al 5 % con las cuales se podrían proponer para adicionarlas a este cemento a base de óxido de zinc y eugenol debido a sus propiedades de baja toxicidad celular .Se ha estudiado la toxicidad del cemento a base de óxido de zinc y eugenol como en el ensayo *in vitro* de Rodríguez *et al.*, 2013 en el cual comprobó la toxicidad de

cementos selladores de varias formulaciones comprobando que todos tienen efecto tóxico y que se ve influenciado por variantes como dosis, tiempo de fraguado debido a ello los esfuerzos por tener otras opciones de cementos selladores a base de otras formulaciones pero a pesar de ello ningún cemento sellador cuenta con todos los requisitos de un cemento sellador ideal. Por ejemplo tenemos los que son a base de resina que con las técnicas actuales de la rehabilitación funcional y estética cumplen con la propiedad de ser más compatibles a los sistemas de adhesión en caso de que se use reconstrucción intraradicular pero a pesar de ello se ha confirmado en diversos estudios como el Mickel *et al.*, 2003 que no cumplen con el requisito de ser antimicrobiano o como los cementos a base de hidróxido de calcio que dimensionalmente no son estables. Diversos estudios se han realizado, entre ellos, el de Siqueira *et al.* en el cual se comprobó la acción antimicrobiana de cementos selladores de diferentes formulaciones: EWT, ThermaSeal, Sealer 26, AH Plus, y Sealer Plus con diferentes bacterias *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Streptococcus mitis*, *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212 e aislado clínicamente), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Lactobacillus casei* (ATCC 4646) y *Escherichia coli* (ATCC 11229) así como también levaduras *Candida albicans* (ATCC 10233) como resultados se reportó que *Enterococcus faecalis* fue una de las bacterias más resistentes que concuerda con los resultados del presente estudio ya que al presentar nuestros cementos selladores experimentales menores zonas de inhibición ante esta bacteria en comparación de los resultados que reportamos ante la levadura *Candida albicans* o el estudio de Queiroz *et al.*, 2009 con cementos a base de óxido de zinc y eugenol como en el presente estudio obteniendo zonas de inhibición mayores a las encontradas en el presente estudio sin embargo cabe destacar que en la metodología de dichos estudios se han utilizado en cuanto a cantidad 1.4 g óxido de zinc - 0.4 mL eugenol es decir, casi el doble de la cantidad utilizada en el presente estudio con lo cual podemos destacar que el presente estudio con las concentraciones de cemento sellador se podría obtener menor toxicidad por ser cemento a base de óxido de zinc y eugenol, como bien sabemos el efecto antimicrobiano y tóxico es

dosis-dependiente, con lo cual se podría decir que entre menos cantidad de cemento sellador se utilice menor será su actividad antimicrobiana y a su vez menor toxicidad y el efecto antimicrobiano se podría compensar con el hecho de adicionar los diferentes agentes antimicrobianos obteniendo resultados aceptables.

En diversos estudios han realizado pruebas con agentes antimicrobianos con la finalidad de brindar propiedad antimicrobiana al cemento sellador para erradicar *Enterococcus faecalis* entre ellos antibioticos como en el estudio realizado por Hoelscher et al.,2006, en el cual utilizaron penicilina, metronidazol, clindamicina reportando resultados de hasta cuando se adicionó el antibiótico al cemento sellador pero si se adicionan antibióticos cabe la posibilidad de que el microorganismo cree resistencia como lo reportado por Dahlén *et al.*,2009 por lo cual en el presente estudio se descartó su uso. Por ello la propuesta del uso de estos agentes antimicrobianos que han sido utilizados en el área médica por su conocido y probado efecto antimicrobiano llevado en estudios como los realizados por Jain et al en el 2004 y con la llegada de la nanotecnología no descartamos la posibilidad de utilizar las nanoparticulas de plata que son bien conocidas por su actividad antimicrobiana así como su biocompatibilidad reportada.

Capítulo 7

Conclusiones

Como conclusiones preliminares del presente estudio podemos concluir que:

La formulación del cemento experimental a base de óxido de zinc y eugenol adicionado con quitosán fue el que obtuvo mejores resultados en cuanto a zonas de inhibición ante *Enterococcus faecalis* y si tomamos en cuenta la desviación estándar diríamos que el yodoformo también fue efectivo obteniendo buenos resultados y ante la levadura *Candida albicans* el yodoformo cabe destacar que como levadura representa un reto ya que a diferencia de los microorganismos tiene una estructura mas compleja; en cuanto a citotoxicidad los porcentajes mas viables de concentraciones son el 2 y 5 %. Como se comprobó en el presente estudio el uso de quitosán y yodoformo para la adición a un cemento sellador a base de óxido de zinc y eugenol fue aceptable en cuanto a zonas de inhibición demostrando tener actividad antimicrobiana ante microorganismos de importancia en el área de endodoncia así como a biocompatibilidad por lo cual se podría tener en cuenta para futuras investigaciones y poder realizar mas pruebas en cuanto a sus propiedades y observar el comportamiento ante la adición de algún agente antimicrobiano. Se ha estudiado que el quitosán es un derivado de la quitina y es el segundo biopolímero mas abundante en la naturaleza además ha ganado interés no solo en el área biomédica sino también en la industria alimenticia, agricultura así como en el área científica cabe destacar que es biocompatible y biodegradable. El yodoformo, otro agente con buenos resultados en el presente estudio que desde antaño se ha utilizado también en el área biomédica y principalmente en la odontología; serían los agentes antimicrobianos que se podrían proponer para ser adicionados al cemento sellador.

Bibliografía

Allevato M, Negroni R, Galimberti R. Antifúngicos ayer, hoy y mañana. *Act Therap Dermatol* 2007;30(8):70-82.

Anderson, AC et al. Comprehensive analysis of secondary dental root canal infections. *Plosone* 2012;7:476-496.

Bal C, Sikri V, Agrawal R. Efficacy of various eugenol and non eugenol root canal sealers in the treatment of teeth with periapical radiolucent área- A clinical and radiological study. *Ind J Dent Res* 1990;1:133-136.

Cruz F, Leite F, Cruz G, Cruz S, Juarez R, Pierce M. Sutures coated with antiseptic pomade to prevent bacterial colonization. *Oral Maxillofac Surg* 2013;104:8-19.

Especies biofilms of *Fusobacterium nucleatum* and *Peptostreptococcus* (micromonas) micros. *J Endod* 2007;33:819-22.

Gjorgievska, E et al. Incorporation of antimicrobial agents can be used to enhance the antibacterial effect of endodontic sealers. *Dent Mater* 2013;29:29-34.

Gómez P. Cementos selladores en endodoncia. *Ustasalud Odontología* 2004;3:100-107.

Grossman L. *Terapéutica de los conductos radiculares*. 4ta. Edición. Buenos Aires. 1959.

Grossman LI. An improved root canal cement. *J Am Dent Assoc* 1958;56:381-85.

Grossman LI. Physical properties of root canal cements. *J Endod* 1976;2:166-75.

Gutmann JL, Field J, Solomon E, Rakusin H. Clinical radiographic and histologic

perspectives on success and failure in endodontics. *Int J Endod* 2004;37(2): 1-12.

Han YG; Park S-H; Yoon TC. Antimicrobial activity of Ca (OH)₂ containing pastes with *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod* 2001;27(5):328-332.

Ingle JI, West JD. Obturación del espacio radicular. En: Ingle JI, Bakland LK, editors. *Endodoncia*. 4.ªed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1996. p. 244.

Ingle, John Ide & Bakland, Leif K. *Endodoncia*. 4a ed. McGraw Hill-Interamericana. México. 1996.

Jain S, Jain S, Gupta O, Vaidya A. Nanotechnology: An emerging area in the field of dentistry. *J Dent Sci*. 2013;08:2-9.

Justinger C, Moussavian M, Schlueter C, Kopp B, Kollmar O, Schilling M. Antibiotic coating of abdominal closure sutures and wound infection. *Surgery* 2011;145:330-334.

Kubo C, Gomes A, Jorge A. Isolating *Candida* from the root canal and assessing its sensitivity to medication used in endodontic therapy. *Rev Odontol UNICID*. 1997;9:119-30.

Kvist T, Reit, C. Results of endodontic retreatment: a randomized clinical study comparing surgical and nonsurgical procedures. *J Endod* 1999;25:1075-1088.

Love RM. *Enterococcus faecalis* - a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J* 2001;34:399-405.

Mickel A, Nguyen T, Chogle S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2003;29:257-258.

Molander A, Reit C, Dahle G, Kvist T. Microbiological status of root- filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998;31:1-7.

Mota J, Yu N, Sofia G, Caridade, Gisela M, Gomes, Rui L, John R, Walboomers F, Mano J. Chitosan bioactive glass nanoparticle composite membranes for periodontal regeneration. *Acta Biomater* 2012;9(3):4173-4180.

Murad L, Sassone M, Faveri M, Hirata R, Figueiredo L, Feres M. Microbial diversity in persistent root canal infections. *J Endod* 2014;40(7):897-906.

Nair P, Sjögren U, Krey G, Kahnberg E, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990;16:580-588.

Osorio G, Demetrio E, Barcha A, Diaz A. y Covo E. Retratamiento endodóntico como primera elección ante cirugía apical. *Rev Cie S.* 2009;6(2):147-153.

Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J* 2001;34:424-434.

Pérez-Díaz, M; Boegli, L; Garth, J; Velasquillo, C; Sánchez-Sánchez, R; Martínez-Martínez, R; Martínez-Castaño, G; Martínez-Gutiérrez, F. Silver nanoparticles with antimicrobial activities against *Streptococcus mutans* and their cytotoxic effect. *Mater Sci Eng* 2015;05:36.

Ricucci D, Siqueira JF. Anatomic and microbiologic challenges to achieving success with endodontic treatment: a case report. *J Endod* 2008;34(10):1249-54.

Siqueira, JF; Sen Bigne, H. Fungi In Endodontic Infections. *Oral Maxillofac Surg*

2004;97:632-41.

Siqueira, Rôças N. Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. JOE 2008;34:1291-1301.

Siqueira, JF; Faviera; Gahyva, SM. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. J Endod 2000;26:274-7.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. Periodontol 2002;28:12-55.

Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Maxillofac Surg 1998;85:86-93.

Takenaka S, Ohshima H, Ohsumi T, Okiji T. Current and future strategies for the control of mature oral biofilms-Shift from a bacteria-targeting to a matrix-targeting approach. JOB 2012;73:173-179.

Waltimo TJ, Brunner M, Vollenweider, WJ, Stark M. Zehnder. Antimicrobial effect of nanometric bioactive glass 45S5. J Dent Res 2007;86:754-757.

Waltimo TM, Siren EK, Orstavik D, Haapasalo MP. Susceptibility of oral Candida species to calcium hydroxide in vitro. Int Endod J 1999;32:94-8.

Waltimo TMT, Siren EK, Torkko HLK, Olsen I, Haapasalo MPP. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. Int Endod J 1997;30:96-101.

Walton-Torabinajed, Richard E. Walton Mahmoud Torabinajed. McGraw Hill Interamericana. 2 ed. 2003.