UNIVERDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESPECIALIDAD DE ENDODONCIA



"ADHESIÓN DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* A CEMENTOS DE REPARACIÓN ENDODÓNTICA"

No. De registro 2026-4

TESIS QUE PRESENTA

CD. HÉCTOR ALBERTO VÁZQUEZ CHONQUI

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN ENDODONCIA

DIRECTOR DE TESIS

DRA. ERIKA DE LOURDES SILVA BENÍTEZ

DRA. MARIANA MELISA AVENDAÑO FELIX

CULIACÁN, SINALOA. 24 DE ENERO 2026

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

U N I V E R S I D A D A U T Ó N O M A D E S I N A L O A

Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial Compartir Igual, 4.0 Internacional



FINANCIAMIENTO

La realización de esta investigación fue posible gracias al respaldo financiero de la **beca CONACHYT** con (No. CVU: **1320270**), al apoyo institucional de la **Especialidad en Endodoncia** y las instalaciones del **Laboratorio de Investigación Posgrados FOUAS** cuyos recursos y acompañamiento fueron fundamentales para el desarrollo y conclusión de este proyecto.

DEDICATORIA

A la memoria de mi **padre**, por ser mi maestro de vida y por inspirarme a perseguir mis sueños con determinación.

A mi **madre** y a **mis hermanos**, por ser mi refugio, mi fuerza y el apoyo inquebrantable que me sostuvo a lo largo de todo este camino.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme llegar hasta este momento, por concederme la fortaleza necesaria en los días difíciles y por iluminar cada paso en este camino hacia la realización profesional.

A mi **madre Amelia**, quien, con su amor infinito, fue el pilar fundamental para alcanzar esta meta. Eres mi mayor ejemplo de entrega, valentía y perseverancia. Gracias por creer en mí, por brindarme siempre tu comprensión, tu ánimo y tu respaldo constante a manos llenas, y por acompañarme siempre con palabras de aliento y fe en cada etapa de mi formación. Este logro es tanto tuyo como mío, fruto de tu esfuerzo y tu dedicación sin límites.

A mi padre, cuyo ejemplo de esfuerzo, responsabilidad y valores sigue presente en mi vida. Hoy, al alcanzar mi formación profesional, inicio la búsqueda de nuevas metas y de mi realización personal, consciente de los desafíos que la vida impone, pero decidido a enfrentarlos con valentía, con la determinación y el valor que me enseño. Aunque no esté físicamente, su recuerdo ha sido una fuente de inspiración y motivación constante para continuar y culminar este logro.

A mis **hermanos Cristian, Jovani, Kitzia, María Acela y familiares**, por su comprensión, cariño y apoyo en todo momento. Gracias por estar cerca, por su palabra oportuna y su confianza en mi capacidad para lograr mis objetivos.

A la **Dra. Yolanda Castro** y al **Dr. Alfredo Ayala** por brindarme la oportunidad de cursar la especialidad, a todos mis **maestros y directores de tesis a la Dra. Erika Silva y a la Dra. Mariana Félix**, quienes, con su dedicación, conocimiento y ejemplo, contribuyeron de manera invaluable a mi formación profesional. Gracias por compartir su experiencia, por su orientación académica y por inspirarme a seguir buscando la excelencia en todo lo que hago. A mis **Endohermanitos** por hacerme sentir en casa se han ganado un espacio en mi corazón, los quiero mucho.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN 16
2. MARCO TEÓRICO 18
2.1 FRACASO ENDODÓNTICO 18
2.2 PERFORACIÓN RADICULAR. 18
2.2.1 Datos epidemiológicos. 19
2.2.2 Factores predisponentes. 20
2.2.3 DIAGNÓSTICO. 20
2.2.4 PRONÓSTICO. 22
2.2.5 TRATAMIENTO. 23
2.3 MATERIALES UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE PERFORACIONES APICALES. 23
2.3.1 SELLADORES A BASE DE SILICATO TRICÁLCICO (MTA/BIOCERAMICA) 25
2.3.2 Selladores liquido-polvo de silicato tricálcico. 26
2.3.3 Selladores de pasta única o pasta-pasta. 29
2.4 INFECCIÓN DERIVADA DE PERFORACIONES APICALES 36
2.5 *ENTEROCOCOS FAECALIS*. 36
2.5.1 MECANISMOS DE ADHESIÓN BACTERIANA. 37
2.5.2 FORMACIÓN DE BIOFILM 38
2.6 ANTECEDENTES 40
4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 42
4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 42
5 JUSTIFICACIÓN 43
6 HIPÓTESIS 45
7 OBJETIVOS 46
7.1 OBJETIVO GENERAL 46
7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 46

8 MATERIALES Y MÉTODOS 47
8.1 MODELO GENERAL DE ESTUDIO: 47
EL ESTUDIO ES DE CARÁCTER MIXTO. 47
8.2 TIPO DE ESTUDIO: 47
ESTUDIO EXPERIMENTAL *IN VITRO*, PROSPECTIVO, TRANSVERSAL Y COMPARATIVO. 47
8.3 MUESTRA: 47
DISCOS DE CEMENTOS DE REPARACIÓN ENDODÓNTICOS A EVALUAR POR TRIPLICADO PARA CADA GRUPO DE ESTUDIO. 47
8.4 TAMAÑO DE MUESTRA: 47
EL ANÁLISIS DE COMPARACIÓN SE LLEVÓ A CABO POR TRIPLICADO PARA CADA GRUPO CEMENTO DE REPARACIÓN A EVALUAR. 47
9 METODOLOGÍA 48
9.1 PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE CEMENTOS DE REPARACIÓN ENDODÓNTICA. 48
SE FABRICÓ UN MOLDE DE SILICONA AUTOPOLIMERIZABLE ZETALABOR (ZHERKMAK, ITALIA), PREVIAMENTE CALIBRADO A LOS MILÍMETROS REQUERIDOS; 2 MM DE ALTURA Y 5 MM DE DIÁMETRO, CON TÉCNICA DE PRENSADO ENTRE 2 LOSETAS DE VIDRIO, POSTERIORMENTE A LA PLANTILLA SE LE REALIZARON PERFORACIONES CON AYUDA DE UN CAPUCHÓN DE AGUJA PERFORADO A MODO DE SACA BOCADOS (FIGURA1), EL CUAL SE USÓ PARA ELABORAR CUATRO GRUPOS EXPERIMENTALES POR TRIPLICADO. 48
SE ELABORARON UN TOTAL DE 28 DISCOS DE LOS DIFERENTES CEMENTOS PARA LA EVALUACIÓN DEL BIOFILM ADHERIDO CON UFC. 48
PARA LA VISUALIZACIÓN EN MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB) SE PREPARARON 2 DISCOS DE CADA GRUPO INOCULADOS Y OTROS 2 MAS DE CADA GRUPO SIN INOCULAR PARA SER OBSERVAR LAS CARACTERÍSTICAS DEL MATERIAL EN SU PREPARACIÓN INMEDIATA (COMO SE REALIZA CLINICAMENTE) Y DESPUÉS DE UN MES DE PREPARACIÓN (ENVEJECIDO). 48
TODOS LOS DISCOS SE FRAGUARON EN CONDICIONES HÚMEDAS CUBRIÉNDOLOS EN SU TOTALIDAD CON AGUA DESTILADA CONFORME A LOS TIEMPOS Y ESPECIFICACIONES DE CADA FABRICANTE. 48
UNA VEZ CONFORMADOS LOS DISCOS SE ESTERILIZARON EN LUZ UV DURANTE 30 MIN. 48
9.2 PREPARACIÓN DE BACTERIA Y EVALUACIÓN DE LAS UFC. 49

9.3 PREPARACIÓN DE BIOFILM SOBRE LOS DISCOS PARA SU OBSERVACIÓN IN VITRO. .51
9.4 EVALUACIÓN EN EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB) 57
10 VARIABLES DEL ESTUDIO.....61
10.1 VARIABLES INDEPENDIENTES 61
10.2 VARIABLES DEPENDIENTES 61
11 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES 61
12 IMPLICACIONES BIOÉTICAS.....62
13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....63
14 RESULTADOS.....64
14.1 EVALUACIÓN DE LAS UFC.....64
14.2 EVALUACIÓN EN MEB 65
14.3 EVALUACIÓN DISCOS ENVEJECIDOS 70
14.4 EVALUACIÓN DISCOS DE PREPARACION INMEDIATA 78
15 DISCUSIÓN.....85
16 CONCLUSIONES.....87
17 PERSPECTIVAS.....88
18 REFERENCIAS.....89

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA I. CEMENTOS DE REPARACIÓN ENDODÓNTICA Y BIOCERÁMICOS: COMPOSICIÓN, PROPIEDADES Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS. 33
TABLA II. OPERALIZACIÓN DE LAS VARIABLES 61

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ELABORACIÓN DE PLANTILLA Y DISCOS DE CEMENTOS A EVALUAR.....49
FIGURA 2. ACTIVACIÓN DE LA BACTERIA *E. FAECALIS* AISLADO CLÍNICO Y AJUSTE DE LA CONCENTRACIÓN. *(A). INCUBACIÓN DE LA BACTERIA POR 24 HRS. (B) AJUSTE DE LA CONCENTRACION ESCALA 0.5 DE MCFARLAND.* 50
FIGURA 3. OBTENCIÓN DE PASTILLA BACTERIANA (A). CENTRIFUGADO BACTERIANO 3 VECES POR 15 MINUTOS. (B) OBTENCIÓN DE SEDIMENTO BACTERIANO A MODO DE PASTILLA EN TUBO FALCON CON SOLUCIÓN SALINA. (C) DISGREGACIÓN DE LA PASTILLA BACTERIANA EN VÓRTEX POR 30 SEGUNDOS EN TUBO DE ENSAYO CON TSB.....50
FIGURA 4. INTERACCIÓN DE LA BACTERIA CON LOS CEMENTOS A EVALUAR. PASTILLAS DE CEMENTOS ENDODONTICOS DE REPARACION EVALUADOS; NP: (NEO PUTTY), BD: (BIODENTINE), DR: (DIA-ROOT) Y DE IV: (IONÓMERO DE VIDRIO) CON E.FAECALIS EN MEDIO TSB DESPUES DE 48 H DE INCUBACION. 51
FIGURA 5. LAVADO DE DISCOS CON SOLUCIÓN SALINA. RETIRO DE MEDIO LIQUIDO TSB Y BACTERIAS NO ADHERIDAS A LOS DISCOS CON 3 SERIES DE LAVADOS. 52
FIGURA 6. (A) COLOCACIÓN DE TUBO EPPENDORF CON EL DISCO EVALUADO AL VORTEX. (B) APOYO DE CRONOMETRO PARA CONTEO DE 30 SEGUNDOS.....53
FIGURA 7. DILUCIONES SERIADAS 1:10. 53
FIGURA 8. TRIPLICADO DE LAS SOLUCIONES. (A). MATERIAL UTILIZADO DURANTE LA DISOLUCIÓN. (B) DISOLUCIONES SERIADAS POR TRIPLICADO ROTULADAS DURANTE EL PROCEDIMIENTO.....54
FIGURA 9. ELABORACIÓN DE CAJAS PETRI. (A) PESAJE DEL MEDIO SOLIDO TSA DESHIDRATADO. (B) HOMOGEINIZACIÓN DEL MEDIO SÓLIDO HIDRATADO EN AGITADOR DE PLACA CALIENTE. (C) ESTERILIZACIÓN DEL MEDIO EN OLLA DE PRESIÓN. (D) VACIADO DEL MEDIO EN CAJAS PETRI BAJO CONDICIONES ESTERILES. (E) ALMACENAJE DE CAJAS PETRI CON TAPA HACIA ABAJO PARA QUE PRECIPITADO NO SE FORME EN EL MEDIO SÓLIDO....55
FIGURA 10. PLAQUEO DE CAJAS PETRI. (A) COLOCACIÓN DE 1 ML DE DISOLUCIÓN EN CAJA PETRI. (B) PLAQUEO DE CAJAS PETRI. (C) INCUBACIÓN DE CAJAS PETRI A 37 °C POR 48 HORAS.....56
FIGURA 11. APLICACIÓN UTILIZADA PARA EL CONTEO DE LAS UFC. (A) LOGO DE APLICACIÓN PARA EL CONTEO DE UFC. (B) RESULTADOS DEL CONTEO DE UFC POR CAJA PETRI....57

FIGURA 12. COLOCACIÓN DE CEMENTOS EN GLUTARALDEHÍDO PARA SU FIJACIÓN Y TRASLADO. 58
FIGURA 13. DESHIDRATACIÓN CON ETANOL Y SECADO DE LAS MUESTRAS. (A) SERIE CRECIENTE DE DESHIDRATACIÓN CON ETANOL AL 20, 40, 60, 80 Y 90 % POR 10 MINUTOS DE LOS DISCOS EVALUADOS. (B) SECADO DE LAS MUESTRAS DESHIDRATADAS. 59
FIGURA 14. OBTENCIÓN DE MICROGRAFÍAS DE LOS CEMENTOS EVALUADOS EN MEB. (A) SPUTTER COATER O RECUBRIDOR POR PULVERIZACIÓN CATÓDICA UTILIZADO PARA RECUBRIR LAS MUESTRAS CON UNA CAPA MUY FINA DE ORO PARA SU VISUALIZACIÓN EN EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB). (B) MUESTRAS COLOCADAS EN LAS PLATINAS DENTRO DE LA CÁMARA DE VACÍO. (C) FORMACIÓN DE PLASMA DENTRO DE LA CÁMARA DE VACÍO SELLADA CON GAS ARGÓN. (D) MUESTRAS CUBIERTAS CON UNA PELÍCULA DELGADA Y UNIFORME DE ORO LISTAS PARA SU RETIRO DE LA CÁMARA DE VACÍO. (E) MONTAJE DE LAS MUESTRAS BAÑADAS EN ORO EN EL PORTAOBJETOS DE MEB. (F) REALIZACIÓN DEL SELLADO Y VACÍO DEL MEB PARA SU CORRECTO FUNCIONAMIENTO. (G) ALINEACIÓN MANUAL DE LAS MUESTRAS CON EL CAÑÓN DE LOS DETECTORES Y ELECTRONES. (H) AJUSTES Y ROTULACIÓN PARA LA VISUALIZACIÓN Y OBTENCIÓN DE LAS MICROGRAFÍAS. 60
FIGURA 15. GRÁFICA DE LOS RESULTADOS DEL CONTEO DE UFC/ML. NP: (NEO PUTTY), BD: (BIODENTINE), DR: (DIA-ROOT), IV: (IONOMERO DE VIDRIO), *P<0.05. 64
FIGURA 16. MICROGRAFÍAS DEL IONÓMERO DE VIDRIO; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X.....66
FIGURA 17. MICROGRAFÍAS DE BIONDENTINE: (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X.....67
FIGURA 18. MICROGRAFÍAS DE DIA-ROOT; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) 4000 X, (D) AUMENTO A 7000.....68
FIGURA 19. MICROGRAFÍAS DE NEO PUTTY; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X......70
FIGURA 20. MICROGRAFÍAS DE DISCOS ENVEJECIDOS DEL IONÓMERO DE VIDRIO; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X.....71

FIGURA 21. MICROGRAFÍAS DE DISCOS ENVEJECIDOS DE BIODENTINE; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X. 73
FIGURA 22. MICROGRAFÍAS DE DISCOS ENVEJECIDOS DE DIA-ROOT; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X. 75
FIGURA 23. MICROGRAFÍAS DE DISCOS ENVEJECIDOS DE NEO PUTTY; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X. 77
FIGURA 24. MICROGRAFÍAS DE DISCOS DE PREPARACION INMEDIATA DEL IONÓMERO DE VIDRIO; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X. 79
FIGURA 25. MICROGRAFÍAS DE DISCOS DE PREPARACION INMEDIATA DE BIODENTINE; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X. 80
FIGURA 26. MICROGRAFÍAS DE DISCOS DE PREPARACION INMEDIATA DE DIA-ROOT; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000 X. 82
FIGURA 27. MICROGRAFÍAS DE DISCOS DE PREPARACION INMEDIATA DE NEO PUTTY; (A) AUMENTO A 500 X, (B) AUMENTO A 1000 X, (C) AUMENTO A 4000 X, (D) AUMENTO A 7000X. 84

ABREVIATURAS

(NP) neo putty

(BD) biodentine

(DR) dia-root

(IV) ionómero de vidrio

(UFC) unidades formadoras de colonias

(MTA) agregado de trioxido mineral

(MEB) microscopio electrónico de barrido.

(TSB) caldo de soya tripticaseína.

(TSA) agar soya tripticaseina

RESUMEN

Introducción: Las perforaciones radiculares representan una complicación clínica endodóntica relevante, debido al riesgo de contaminación microbiana y posible fracaso. Entre los microorganismos implicados, *Enterococcus faecalis* destaca por su elevada capacidad de adhesión, tolerancia a ambientes adversos y formación de biopelícula, que favorece infecciones persistentes. Por ello, la elección del cemento reparador es fundamental para limitar colonización bacteriana y mejorar el pronóstico clínico. **Objetivo:** Evaluar la adhesión de un aislado clínico de *E. faecalis* a diferentes cementos de reparación radicular. **Materiales y métodos:** Estudio experimental *in vitro*. Se elaboraron 7 discos de cada grupo: Biodentine (C+), ionómero de vidrio (C-), Neo PUTTY y DIA-ROOT (grupos experimentales). Dos discos de cada grupo se conservaron sin inocular para observar las características del material en su preparación inmediata y después de 30 días. Cinco discos fueron esterilizados, inoculados con *E. faecalis* e incubados durante 48 horas. La adhesión bacteriana se determinó mediante conteo de unidades formadoras de colonias (UFC). La morfología del biofilm y de los discos sin inocular se examinó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). Los datos fueron analizados con ANOVA de un factor y prueba de Tukey, con nivel de significancia $p<0.05$. **Resultados:** Se observaron diferencias significativas en adhesión de *E. faecalis* entre los cementos ($p= 0.0284$). Ionómero de vidrio presentó la menor proliferación bacteriana, Biodentine mostró mayor cantidad de UFC y mayor formación de biopelícula. Neo PUTTY y DIA-ROOT no evidenciaron diferencias significativas; sin embargo, el análisis en MEB mostró menor colonización superficial en DIA-ROOT. **Conclusiones:** La adhesión de *E. faecalis* depende de las propiedades superficiales y químicas de cada cemento. Los resultados confirman la hipótesis. DIA-ROOT fue el menos susceptible y Biodentine el más colonizado. Estos hallazgos aportan evidencia *in vitro* útil para la selección de cementos reparadores en casos de perforaciones radiculares.

Palabras clave: *Enterococcus faecalis*, biocerámicos, adhesión bacteriana, perforación radicular.

ABSTRACT

Introduction: Root perforations represent a relevant endodontic complication due to the risk of microbial contamination and possible treatment failure. Among the implicated microorganisms, *Enterococcus faecalis* stands out for its high adhesion capacity, tolerance to hostile environments, and biofilm formation; these contributes to persistent infections. Therefore, the selection of the repair material is essential to limit bacterial colonization and improve the clinical prognosis. **Objective:** To evaluate the adhesion of a clinical isolate of *E. faecalis* to different root repair cements. **Materials and methods:** An *in vitro* experimental study was conducted. Seven discs were prepared for each group: Biodentine (positive control), glass ionomer (negative control), Neo PUTTY, and DIA-ROOT (experimental groups). Two discs from each group were kept non-inoculated to observe the characteristics of the freshly prepared material and after 30 days. Five discs were sterilized, inoculated with *E. faecalis*, and incubated for 48 hours. Bacterial adhesion was determined by colony-forming units (CFU) counting. Biofilm morphology and the non-inoculated discs were examined by scanning electron microscopy (SEM). Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's test, considering a significance level of $p < 0.05$. **Results:** Significant differences in *E. faecalis* adhesion were observed among the cements ($p = 0.0284$). Glass ionomer exhibited the lowest bacterial proliferation, while Biodentine showed the highest CFU counts and greater biofilm formation. Neo PUTTY and DIA-ROOT did not show significant differences; however, SEM analysis revealed lower surface colonization in DIA-ROOT. **Conclusions:** *E. faecalis* adhesion depends on the surface and chemical properties of each cement. The results confirm the study hypothesis. DIA-ROOT was the least susceptible material, whereas Biodentine showed the highest colonization. These findings provide useful in vitro evidence for the selection of repair cements in cases of root perforations.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, bioceramics, bacterial adhesion, root perforation.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos del tratamiento de conductos es la preservación de las estructuras periapicales en total integridad. En el caso de que estas sean vulneradas, se deben propiciar los medios para devolverlas a un estado de salud (1). Para esto, se emplean agentes irrigantes como la clorhexidina y el hipoclorito de sodio, que coadyuban en la eliminación de microorganismos o desinfección del sistema de conductos. Además, la obturación permite un sellado estable y tridimensional, usando materiales con propiedades inertes o antisépticas que no interfieran o incluso estimulen el proceso de reparación (2).

Sin embargo, aún con el uso de estos agentes irrigantes, eliminar los microorganismos después de la instrumentación puede convertirse en un objetivo difícil de alcanzar (3). Ya que hay algunas bacterias que logran adherirse a las paredes de los conductos y formar comunidades organizadas, acumulándose en biopelículas. Característica que podría ser fundamental para su resistencia y persistencia después de aplicar procedimientos quimio-mecánicos (4). Es razonable que los microorganismos asentados en ramificaciones, istmos u otras irregularidades logren evadir los efectos de sistemas rotatorios e irrigantes (5). Se considera que esto es debido principalmente a las limitaciones físicas resultado de la morfología tan variada del sistema de conductos (6).

Uno de los principales factores etiológicos asociados al fracaso del tratamiento endodóntico es la disposición de estos microorganismoss tanto en su estado planctónico como en biofilms que subsisten en un sistema de conductos obturado y puedan migrar hacia los tejidos periapicales (7,8). El *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)*,* es uno de estos microoganismos que puede sobrevivir por largos períodos de tiempo en la nula presencia de nutrientes y sin el apoyo de otras bacterias (9). Se adhiere a la dentina invadiendo los túbulos dentinarios(10). Además, altera las defensas del huésped ya que posee enzimas como hialuronidasas, citolisinas, ácido lipoteicoico y litico que inhiben la acción de los linfocitos (11). Incluso posee un

inhibidor de la bomba de protones que permite regular su pH frente a agentes desinfectantes (12).

Por esta razón es de suma importancia la certera elección en cada caso clínico de un sellador endodóntico que contribuya al éxito del tratamiento a largo plazo(13). Tienen la finalidad de llenar espacios, conductos accesorios, canales laterales e inclusive el desarrollo de materiales biocerámicos ha permitido su empleo en la intervención de iatrogenias, como perforaciones coronales y/o radiculares, aumentando significativamente la tasa de éxito en estas reparaciones (14).

Las propiedades que poseen los cementos endodónticos de reparación les otorgan características ideales para aplicarlos dentro y fuera del sistema de conductos. Si no cumplen su función, las microfugas pueden generar deficiencias permitiendo el paso indetectable de bacterias y sus fluídos a través de la obturación de la perforación (15). Por lo que se puede inferir que los materiales de obturación y reparación de conductos se emplean en un entorno biológico desafiante, donde interaccionan con fluidos tisulares, sangre y bacterias residuales (16). Por lo tanto, estos cementos de reparación endodóntica juegan un papel crucial para evitar que las bacterias residuales y persistentes obtengan acceso a nutrientes que les permitan proliferar y provocar una reinfección.

Por lo que el objetivo de este proyecto es evaluar la adhesión de *E. faecalis* a nuevos cementos endodónticos de reparación para proporcionar nueva información y bases teóricas que respalden la selección adecuada por parte del clínico en casos de perforación radicular.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 FRACASO ENDODÓNTICO

En el tratamiento endodóntico es de suma importancia la eliminación de todos los tejidos del sistema vasculonervioso, los restos dentinarios, microorganismos y sus subproductos (17). La permanencia de estos últimos es uno de los causantes de la inflamación perirradicular, por lo que su erradicación es esencial para asegurar un tratamiento de conductos exitoso (5).

Se ha reportado, que no retirar eficazmente o por completo los restos de tejido pulpar y microorganismos, podría llevar al deterioro de la reparación periapical y una inflamación constante de los tejidos de soporte (18). Ya que aún realizada una instrumentación adecuada y un protocolo de desinfección con soluciones irrigantes como el hipoclorito de sodio, no siempre logra eliminar por completo la presencia de microorganismos en el conducto radicular (19).

Se considera que el principal motivo del fracaso endodóntico es la presencia de infección persistente (10), aunque también puede darse debido a otras causas como: perforaciones radiculares, deficiente obturación, conductos no tratados o un inadecuado sellado coronal del sistema de conductos (20).

2.2 PERFORACIÓN RADICULAR.

Es una complicación comunicante que puede surgir durante el tratamiento endodóntico químico-mecánico de manera artificial (patológica o iatrogénica) entre las paredes del sistema vasculonervioso del órgano dental y los tejidos perirradiculares de soporte o la cavidad bucal originadas por procedimientos como fresado, taladrado, corte o procesos de resorción o caries (21,22).

En 1996, Fuss y Trope (23), propusieron una clasificación para las perforaciones radiculares, basada en diversos aspectos como el tiempo de evolución, el tamaño y la ubicación de la perforación. Esta clasificación incluye las siguientes categorías:

- Perforación reciente: Corresponde a aquellas tratadas inmediatamente o poco después de su aparición bajo condiciones asépticas, lo que generalmente asegura un buen pronóstico.
- Perforación antigua: Se refiere a perforaciones no tratadas de manera oportuna, lo que incrementa el riesgo de infección bacteriana y conlleva un pronóstico reservado.
- Perforación pequeña: En este caso, el daño tisular y la inflamación asociada son mínimos, lo que favorece un pronóstico positivo.
- Perforación grande: Provoca una destrucción significativa del tejido, acompañada de inflamación intensa, lo que dificulta un sellado adecuado y resulta en un pronóstico reservado.
- Perforación coronaria: Localizada por encima del nivel del hueso crestal y la unión epitelial. Si el daño a los tejidos de soporte es mínimo, esta perforación suele ser de fácil acceso y presenta un buen pronóstico.
- Perforación de la cresta: Situada al nivel de la inserción epitelial en el hueso crestal, esta perforación presenta un pronóstico reservado debido a su ubicación crítica.
- Perforación apical: Ubicada por debajo del hueso crestal y la unión epitelial, esta perforación generalmente tiene un buen pronóstico

Esta clasificación permite una evaluación más precisa de las perforaciones y facilita la planificación de tratamientos adecuados.

2.2.1 Datos epidemiológicos.

Las perforaciones radiculares son una de las causas más comunes de fracasos endodónticos con casi el 10% (24). En accidentes endodónticos las perforaciones se

presentan de un 29% hasta en un 87% en la zona de la cámara pulpar de molares (24). Se ha reportado que el 53% de las perforaciones causadas por iatrogenias ocurren durante la preparación para poste y el 47% restante durante el proceso del tratamiento endodóntico rutinario. Mientras que el 73% se presentan en el maxilar y el resto en mandíbula (25).

2.2.2 Factores predisponentes.

Entre los principales factores que predisponen al desarrollo de una perforación radicular se encuentran el uso indiscriminado de instrumentos rotatorios, la búsqueda de conductos radiculares, canales calcificados, la sobre instrumentación de conductos extremadamente curvos y la extensión lateral hacia zonas de riesgo (22).

Su formación conduce el desarrollo de inflamación, dolor e infección bacteriana que emana del conducto hacia los tejidos de soporte resultando en supuraciones, abscesos y/o fístulas (22). Provocando a su vez reabsorciones óseas y proliferaciones del tejido epitelial (26).

2.2.3 Diagnóstico.

La detección precisa y ubicación de la perforación radicular son factores cruciales para un resultado adecuado al realizar su tratamiento, entre más precoz sea la intervención esta será de mejor pronóstico (27). Para lograrlo se deben conocer herramientas y signos clínicos así como exámenes complementarios que nos servirán para confirmarlo (22).

La localización de una perforación radicular puede determinarse a través de radiografías, signos de sangrado inesperado, molestias durante la instrumentación, el uso de un localizador de ápice electrónico y la observación detallada con un microscopio quirúrgico dental (28).

Cuando se está realizando un tratamiento de conductos algunas de las señales de alerta de una posible perforación radicular son el dolor o sangrado durante la instrumentación. Estas señales también pueden presentarse cuando se realiza la preparación para postes (29).

Puede ser indicativo de perforación la aparición de sangre en las puntas de papel, aunque estas suelen ser poco confiables ya que el sangrado puede provenir del agujero apical o residuos remanentes de tejido pulpar (30). Otra alternativa para la detección de una posible perforación son las radiografías periapicales tomadas en diferentes ángulos con instrumentos o materiales radiopacos dentro del conducto, sin embargo, cuando las perforaciones se encuentran en caras palatinas, linguales o vestibulares, las radiografías pierden mucho valor diagnóstico (31).

Los localizadores electrónicos de ápice pueden ser precisos en la ubicación, más confiables que las radiografías. Al colocar la lima sobre la perforación estos arrojarán una lectura de cero. Las lecturas de los localizadores en cuanto a la longitud de trabajo original más cortas pueden ser también un indicativo de perforación (25).

El uso de magnificación como lupas y/o microscopio quirúrgico dental son otra de las herramientas útiles y eficaces para su detección. Son herramientas de gran ayuda tanto para la localización, diagnóstico y tratamiento de perforaciones, ya que facilitan la visualización y permiten evaluar con mayor precisión su gravedad (25). Actualmente, se ha evidenciado que la tomografía computarizada de haz cónico (CBCT) es también una herramienta valiosa para el diagnóstico de las perforaciones radiculares, debido a su capacidad para generar imágenes tridimensionales con alta resolución espacial y notable precisión geométrica. Los softwares de lectura asociados a la CBCT permiten manipular la imagen reconstruida mediante la integración de múltiples cortes, lo que posibilita una evaluación detallada a modo de exploración de todos los plexos ya sea axial, sagital y coronal. Esta visualización favorece la identificación exacta de discontinuidades en la superficie radicular (32).

Para la detección adecuada de perforaciones se recomienda ordenar una tomografía con un campo de visión reducido como estudios 5x5 centradas exclusivamente en el órgano dental de interés. Del mismo modo es aconsejable solicitar tamaños pequeños de voxel entre 0.125 y 0.2 mm, ya que estos parámetros proporcionan una mayor nitidez y permiten distinguir con claridad defectos más finos y nítidos en las paredes del conducto radicular (33).

2.2.4 Pronóstico.

La ubicación y el tamaño de las perforaciones son de suma importancia para prever el resultado del tratamiento. El pronóstico está asociado a múltiples factores, incluyendo el tiempo transcurrido desde que ocurrió la perforación, su ubicación y tamaño, el material seleccionado para la reparación, además de las condiciones sistémicas del paciente. El pronóstico aumenta favorable cuando la perforación se trata de forma inmediata (30).

- El tiempo:
    a. Perforaciones recientes: se produce durante el tratamiento endodóntico y se evidencia por la presencia de abundante sangrado en el área comprometida.
    b. Perforaciones antiguas: es aquella que no fue atendida inmediatamente durante la misma sesión del procedimiento endodóntico en la que ocurrió (34).
- Tamaño:

  En el caso de perforaciones pequeñas que se encuentran por encima del hueso crestal se considera que su pronóstico es aceptable permitiendo un mejor sellado lo que se manifiesta a un pronóstico más favorable (26).
- Ubicación:

  El éxito en el tratamiento de una perforación radicular depende principalmente de la presencia o ausencia de contaminación bacteriana en el área afectada.

  a. Perforaciones cerca del hueso crestal y la inserción epitelial: son especialmente críticas debido al mayor riesgo de contaminación desde el entorno oral a través del surco gingival.

b. Perforaciones por encima del hueso crestal: suelen ser más accesibles para su reparación, permitiendo una restauración sin comprometer los tejidos periodontales.
c. Perforaciones apicales al hueso crestal: aunque se ha documentado un pronóstico favorable con la adhesión epitelial, su éxito depende de realizar una limpieza, modelado y obturación adecuados (30).

2.2.5 Tratamiento.

Según el acceso y la visibilidad de la perforación, la corrección puede realizarse mediante técnicas quirúrgicas o no quirúrgicas (35). Además, es fundamental considerar criterios como el tamaño de la perforación, las condiciones periodontales del paciente, la higiene oral, la importancia estratégica del órgano dental y la experiencia del operador para determinar el tratamiento (25).

La misión del endodoncista radica en conservar el órgano dental en cavidad oral y mejorar las condiciones del paciente. En este sentido, el tratamiento consiste en emplear materiales biocerámicos en el tratamiento de perforaciones radiculares, ya que, al estar compuestos principalmente por silicato de calcio, son bioactivos y biocompatibles, lo que facilita su integración con los tejidos circundantes (36).

Actualmente, estos materiales se utilizan ampliamente en endodoncia debido a sus excelentes propiedades, como adecuada radiopacidad, baja solubilidad, fluidez óptima y características biológicas favorables, incluyendo la formación de hidroxiapatita, actividad antimicrobiana y bioactividad (37).

2.3 MATERIALES UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE PERFORACIONES APICALES.

Para lograr un resultado favorable, es fundamental sellar la perforación con un material biocompatible lo más pronto posible ya que el tiempo es un factor crucial para reducir

la manifestación del proceso infeccioso y destrucción de los tejidos de soporte desencadenados por una respuesta inflamatoria (29). Dicho material debe ser adecuado para asegurar una integración efectiva y prevenir complicaciones en la zona afectada (38).

El material ideal para la intervención de las perforaciones debe contar con las siguientes características (39):

1. Excelente capacidad de sellado.
2. Biocompatible.
3. Bioactivo: (capaz de inducir procesos de cementogénesis y osteogénesis, favoreciendo así la regeneración de los tejidos perirradiculares.
4. No reabsorbible.
5. Radiopaco.
6. Bacteriostático.
7. Fácil de manipular.
8. Dimensionalmente estable.
9. Insoluble en los fluidos tisulares.
10. Estéticamente aceptable.

En las últimas décadas se han evaluado diversos materiales de reparación endodóntica. La reciente introducción de materiales biocerámicos ha mostrado resultados prometedores (40). Estos biocerámicos no solo ofrecen una biocompatibilidad sobresaliente, también se ha reportado que gracias a su elevado pH alcalino poseen propiedades antibacterianas (41). Este enfoque innovador, ha mejorado las perspectivas de éxito en las reparaciones radiculares al reducir las infecciones y promover un entorno favorable para la regeneración del tejido (42).

Según su composición estos han sido divididos en materiales bioinertes, bioactivos y biodegradables según su reactividad con los tejidos circundantes. Las biocerámicas empleadas en endodoncia son, en su mayoría, materiales bioactivos, destacándose los cementos a base de silicato de calcio como los más utilizados. Estos cementos,

además de poseer sobresalientes propiedades físicas y químicas, desempeñan un papel fundamental en la terapia endodóntica gracias a su biocompatibilidad y capacidad bioactiva (43).

2.3.1 Selladores a base de silicato tricálcico (MTA/BIOCERAMICA)

Los biocerámicos (BC) son materiales cerámicos inorgánicos, no metálicos y altamente biocompatibles, diseñados para aplicaciones médicas y odontológicas. Estos están compuestos por alúmina, zirconio, vidrio bioactivo, cerámica de vidrio, silicato de calcio, hidroxiapatita y fosfatos de calcio reabsorbibles.(16)

Los selladores bioceramicos son, además, no tóxicos, estables en entornos biológicos, y presentan una ligera expansión tras el proceso de fraguado en lugar de contracción. Además, son capaces de formar hidroxiapatita en presencia de líquidos a través del proceso de hidratación del silicato de calcio, lo que los hace insensibles a la humedad durante su aplicación (44).

Los selladores a base de silicato de calcio (CS) han ganado popularidad por sus características de bioactividad y biocompatibilidad (45). Estos materiales están compuestos principalmente por:

- Silicato de calcio.
- Fosfato monocálcico.
- Hidróxido de calcio.
- Óxido de circonio.
- Aditivos como cargas y agentes espesantes (46).

Estos selladores hidráulicos necesitan de la humedad para completar su proceso de fraguado. Durante este fraguado, liberan iones y elevan el pH, lo que les otorga capacidades antimicrobianas y de biomineralización (22). No obstante, estas propiedades pueden diferir de manera notable según los aditivos específicos de cada formulación, lo cual puede afectar tanto sus indicaciones de uso como su aplicabilidad en el ámbito clínico (47).

2.3.2 Selladores liquido-polvo de silicato tricálcico.

Son una clase de cementos hidráulicos compuestos principalmente por silicatos tricálcico y dicálcico, que reaccionan con el agua para formar hidrato de silicato de calcio, liberando iones de calcio y silicio, entre otros.(48) Una de las principales ventajas de estos materiales es su capacidad para generar hidroxiapatita, lo que permite crear un enlace firme entre la dentina y el cemento de silicato tricálcico, favoreciendo un sello hermético durante procedimientos como la obturación de perforaciones. (49)

2.3.2.1 MTA REPAIR HD

- (Angelus Ind. Prod. Odontológicos, Londrina, Brazil) es un cemento de reparación endodóntica presentándose como un sistema polvo líquido, cuya fase en polvo está constituida principalmente por silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico y óxido de calcio, componentes responsables de sus propiedades bioactivas y de fraguado. Presentan un tiempo de endurecimiento aproximado de 15 minutos, lo que permite una manipulación clínica relativamente rápida (50). Entre sus ventajas se ha descrito su capacidad para estimular la formación de cementoblastos, así como proporcionar un buen sellado en procedimientos de reparación de perforaciones radiculares, favoreciendo el éxito clínico (51). No obstante, también presenta desventajas, como su presentación en cápsulas, lo que requiere el uso de un amalgamador y su difícil manipulación, atribuida a una consistencia granular que puede dificultar su colocacion clínica (52).

2.3.2.2 Biodentine

- (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francia.) Es un cemento bioactivo a base de silicato cálcico, presentado en un sistema polvo-líquido. La fase en polvo está compuesta por silicato tricálcico, silicato dicálcico, carbonato de calcio y

óxido de zirconio, mientras que la fase líquida consiste en una solución acuosa de cloruro de calcio, Junto con un polímero soluble en agua que actúa como reductor, lo que contribuye a mejorar su manipulación y acelerar el fraguado. Este material presenta un tiempo de endurecimiento de aproximadamente 9 a 12 minutos, considerado corto en comparación con otros cementos de reparación endodontica (53). Entre sus ventajas, se ha reportado que Biodentine posee propiedades mecánicas similares a las de la dentina humana, lo que favorece una adecuada distribución de tensiones (54). Así mismo, se considera un material adecuado para la reparación de perforaciones radiculares, incluso después de la exposición a soluciones irrigadoras, además de presentar un corto tiempo de fraguado y una buena manejabilidad clínica. Sin embargo, también presenta desventajas, entre las que se incluyen su presentación en cápsulas, lo que requiere el uso de un amalgamador para su manipulación (54), así como una mayor solubilidad y menor radiopacidad en comparación con el MTA, lo que puede representar una limitación clínica en ciertos escenarios (55).

2.3.2.3 NeoMTA Plus.

- (Avalon Biomed Inc, Bradenton, EE. UU.) Es un cemento bioactivo de reparación endodontica basado en silicatos cálcicos, presentado en un sistema polvo-líquido. La fase en polvo está compuesta por silicato tricálcico, silicato dicálcico y óxido de tantalio, este último utilizado como agente radiopacificante, alternativo al óxido de bismuto, con el objetivo de mejorar la estabilidad cromática del material. La fase líquida consiste en un gel a base de agua, diseñado para facilitar la manipulación y permitir una consistencia clínica más controlable, NeoMTA Plus presenta un tiempo de endurecimiento aproximado de 15 minutos, lo que lo posiciona como un material de fraguado relativamente rápido dentro del grupo de cementos de reparación endodóntica (56).

2.3.2.4 BioRoot RCS.

- (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francia.) Es un cemento endodontico bioactivo a base de silicato cálcico, presentado en un sistema polvo-líquido. La fase en polvo está compuesta principalmente por silicato tricálcico como cemento activo, povidona y óxido de circonio, mientras que la fase líquida contiene agua, cloruro de calcio y un polímero soluble en agua, componentes que favorecen la hidratación y manipulación del material. Este cemento presenta un tiempo de endurecimiento aproximado de 5 horas y media, considerado prolongado en comparación con otros cementos de reparación endodóntica (57).
- Entre sus ventajas, se ha reportado que BioRootRCS no presenta contracción durante el fraguado, lo que contribuye a la estabilidad dimensional, además de mostrar una alta biocompatibilidad, favoreciendo la respuesta tisular periapical. Sin embargo, una de sus principales desventajas es su tiempo de fraguado relativamente largo, lo que puede representar una limitación clínica en procedimientos que requieren una rápida estabilidad del material (58).

2.3.2.5 ProRoot MTA.

- (Dentsply Sirona World Headquarters – Charlotte, NC, USA) Es un cemento de reparación endodóntica a base de silicatos cálcicos, presentado en un sistema polvo- líquido. La fase en polvo está compuesta por silicato tricálcico, silicato dicálcico, oxido de bismuto, aluminato tricálcico, aluminoferrita tetracalcica, óxido de magnesio y sulfato de calcio, mientras que la fase líquida consiste en agua destilada, necesaria para iniciar la reacción de hidratación del material. ProRoot MTA presenta un tiempo de endurecimiento aproximado de 2 a 3 horas, considerado prolongado en comparación con otros elementos bioactivos de uso endodontico. Entre sus ventajas, se ha documentado una

biocompatibilidad favorable, así como actividad antimicrobiana y una alta capacidad de mineralización, lo que favorece la formación de tejidos duros y el sellado biológico en procedimientos de reparación radicular. No obstante, también presenta desventajas clínicas, entre las que se incluyen la posible decoloración dental, atribuida principalmente a la presencia de óxido de bismuto, y propiedades de manejo desfavorables, que pueden dificultar su manipulación y colocación clínica (55).

2.3.3 Selladores de pasta única o pasta-pasta.

2.3.3.1 iRoot SP.

- (Inovate BioCeramix, Inc., Vancouver, Canadá) Es un cemento biocerámico endodontico premezclado, presentado en forma de pasta lista para su uso clínico. Su composición incluye óxido de circonio, silicatos de calcio, fosfato de calcio, hidróxido de calcio y agentes espesantes, los cuales le confieren propiedades bioactivas, estabilidad dimensional y adecuada consistencia clínica. Este material presenta un tiempo de endurecimiento aproximado de 4 horas, considerado relativamente corto dentro del grupo de cementos bioceramicos endodonticos (56).
- Entre sus ventajas se ha reportado que iRoot SP es un material insoluble, lo que favorece la estabilidad del sellado a largo plazo, además de ser radiopaco, facilitando su evaluación radiográfica. Asimismo, presenta un fraguado relativamente rápido, lo que contribuye a su practicidad clínica y a la reducción del riesgo de contaminación durante el procedimiento (59).

2.3.3.2 EndoSequence BC.

- (Brasseler USA, Savannah, EE. UU.) Es un cemento bioerámico endodóntico premesclado, disponible en forma de pasta en jeringa y masilla moldeable, lo que facilita su aplicación clínica en distintos procedimientos endodónticos. Su composición incluye óxido de circonio, silicato de calcio, fosfato de calcio, hidroxido de calcio y agentes espesantes, componentes que le confieren bioactividad, estabilidad dimensional y adecuada consistencia. Este material presenta un tiempo de endurecimiento aproximado de 4 horas, con un tiempo de trabajo cercano a los 30 minutos, lo que permite una manipulación clínica controlada (56).
- Entre sus ventajas, destaca su versatilidad de presentación y su tiempo de trabajo prolongado, lo cual favorece su colocación precisa. No obstante, entre sus desventajas, se ha reportado la presencia de fugas de sellado mayores en comparación con el MTA, lo que podría comprometer el sellado apical en determinados escenarios clínicos (60).

2.3.3.3 Total, Fill BC.

- (FKG Dentaire SA, La Chaux-de- Fonds, Switzerland) Es un cemento biocerámico endodontico premezclado, presentado en forma de pasta lista para su uso clínico. Su composición incluye óxido de circonio, silicatos de calcio, fosfato de calcio monobásico, hidróxido de calcio y agentes espesantes, componentes que le confieren bioactividad y estabilidad química. Este material presenta un tiempo de endurecimiento aproximado de 2 horas. considerado corto dentro del grupo de cementos biocerámicos.
- Entre sus ventajas, se ha reportado una alta resistencia al lavado, así como la capacidad de inducir la formación de hidroxiapatita, lo que favorece una buena adhesión a la dentina y un sellado biológico efectivo. Sin embargo, también presenta desventajas, ya que su presentación premezclada puede generar

limitaciones relacionadas con la viscosidad, lo que en algunos casos dificulta su manipulación o colocación precisa dentro del defecto a reparar (56).

2.3.3.4 CeraSeal.

- (Meta Biomedic, Chungcheongbuk-do, República de Corea) Es un cemento biocerámico endodontico premezclado, presentado en forma de pasta lista para su aplicación clínica. Su composición incluye silicato tricálcico (20-30%), silicato dicálcico (1-10%), Aluminato tricálcico (1-10%) y dioxido de circonio (45-50%), además de agentes espesantes, lo que le confiere propiedades bioactivas, adecuada radiopacidad y fluidez controlada. Este material presenta un tiempo de endurecimiento aproximado o de 3 a 5 horas, considerado intermedio dentro del grupo de cementos biocerámicos endodónticos.
- Entre sus ventajas, destaca que su presentación premezclada facilita la colocación clínica, al no requerir la mezcla manual de polvo y líquido, además de ofrece una excelente rapacidad y un flujo adecuado, lo que favorece su adaptación al defecto. No obstante, también presenta desventajas, como un menor control de la consistencia en comparación con materiales en presentación tipo putty, así como un mayor tiempo de endurecimiento, lo que podría aumentar el riesgo de contaminación durante el fraguado (61).

2.3.3.5 Bio-C Repair.

- (Angelus, Londrina, PR, Brasil). Es un cemento bioceramico endodóntico premezclado, presentado en forma de pasta lista para su uso clínico. Su composición incluye silicato de calcio, magnesio, sulfato de calcio, sulfato de potasio, óxido de circonio y dióxido de silicio, además de agentes espesantes, lo que le confiere propiedades bioactivas, radiopacidad y estabilidad dimensional. Este material presenta un tiempo de endurecimiento aproximado

de 120 minutos, considerado prolongado en comparación con otros cementos de reparación biocerámicos.

- Entre sus ventajas, se destaca su presentación como masa lista para usar, lo que simplifica la manipulación clínica, así como su capacidad de fraguado en medios húmedos, característica relevante en el entorno endodontico. Sin embargo, también presenta desventajas, entre las que se incluye un fraguado relativamente lento y el hecho de que la falta de humedad pueda retrasar el proceso de endurecimiento, lo que podría afectar su estabilidad inicial y aumentar el riesgo de contaminación. (62).

Tabla I. Cementos de reparación endodóntica y biocerámicos: composición, propiedades y características clínicas.

Cemento	Marca / Origen	Presentación	Componentes principales	Tiempo de endurecimiento	Ventajas	Desventajas	Referencia
MTA Repair HD	Angelus, Londrina, Brasil	Polvo + líquido (cápsula)	Silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, óxido de calcio, tungstato decalcio.	~15 min	Estimula cementoblastos, buen sellado en perforaciones	Requiere amalgamador, manipulación difícil, consistencia granular.	(50)
Biodentine	Septodont, Francia	Polvo + líquido (cápsula)	Silicato tricálcico, silicato dicálcico, carbonato de calcio, óxido de zirconio; cloruro de calcio	9–12 min	Propiedades mecánicas similares a dentina, buena manipulación, fraguado corto	Requiere amalgamador, mayor solubilidad y menor radiopacidad que MTA	(53)
NeoMTA Plus	Avalon Biomed, EE. UU.	Polvo + gel	Silicato tricálcico, silicato dicálcico, óxido de tantalio.	~15 min	Mejor estabilidad cromática, buena manipulación.	Información clínica aún limitada.	(56)
BioRoot RCS	Septodont, Francia.	Polvo + líquido	Silicato tricálcico, povidona,	~5.5 h	Alta biocompatibilidad, sin contracción	Tiempo de fraguado prolongado	(57)

			óxido de circonio.				
ProRoot MTA	Dentsply Tulsa Dental, USA.	Polvo + líquido	silicato tricálcico, silicato de dicálcico, oxido de bismuto, Aluminato de tricálcico, aluminoferrita de tetracálcico, oxido de magnesio, sulfato de calcio.	2–3 h	Biocompatible, antimicrobiano, induce mineralización	Decoloración dental, manejo desfavorable	(55)
iRoot SP	Innovate BioCeramix, Canadá.	Pasta premezclada	Óxido de circonio, silicatos de calcio, fosfato de calcio, hidróxido de calcio	~4 h	Insoluble, radiopaco, fraguado relativamente rápido	Dependiente de humedad	(56)
EndoSequence BC	Brasseler USA	Pasta / putty premezclado	Óxido de circonio, silicatos de calcio, fosfato de calcio, hidróxido de calcio.	~4 h	Buen tiempo de trabajo, presentación versátil	Mayor fuga de sellado vs MTA	(56)

TotalFill BC	FKG Dentaire, Suiza	Pasta premezclada	Óxido de circonio, silicatos de calcio, fosfato de calcio monobásico, hidroxido de calcio	~2 h	Resistente al lavado, forma hidroxiapatita, buena adhesión a dentina	Viscosidad puede dificultar colocación	(56)
CeraSeal	Meta Biomedic, Corea	Pasta premezclada	Silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, dióxido de circonio	3–5 h	Excelente radiopacidad, buen flujo, fácil colocación	Menor control que putty, fraguado más largo	(61)
Bio-C Repair	Angelus, Brasil	Pasta premezclada	Silicato de calcio, magnesio, sulfatos, óxido de circonio, dióxido de silicio	~120 min	Lista para usar, fraguado en medios húmedos	Fraguado lento, requiere humedad	(62)

La presente tabla resume las principales características de los cementos de reparación endodóntica y biocerámicos descritos en este estudio, incluyendo su marca comercial, tipo de presentación, composición, tiempo de endurecimiento, así como sus ventajas y desventajas clínicas. Este cuadro comparativo permite visualizar de manera integral las diferencias y similitudes entre los materiales, facilitando su análisis en relación con su comportamiento biológico, sellado y potencial interacción microbiológica, aspectos relevantes para la evaluación de la adhesión bacteriana en el contexto endodóntic

2.4 INFECCIÓN DERIVADA DE PERFORACIONES APICALES

Se producen por microorganismos que forman parte de una infección primaria o secundaria que sobrevivieron (63). La combinación de una perforación traumática con una infección bacteriana o materiales restauradores irritantes puede impedir la cicatrización adecuada. Una vez que se establece una infección en una perforación inadvertida, el pronóstico del tratamiento se vuelve incierto, y las complicaciones resultantes pueden ser lo suficientemente graves (64).

Después de una terapia endodóntica fallida los microorganismos presentes son limitados en comparación con los que se encuentran en los conductos no tratados (41). Las especies aisladas con mayor frecuencia dentro de los conductos ya conformados y en las zonas periapicales son los anaerobios gran positivos y facultativos. Entre ellos el más frecuente es *E. faecalis* (18).

2.5 *ENTEROCOCOS FAECALIS*.

E. Faecalis es una especie perteneciente al género *Enterococcus.* Se trata de cocos grampositivos, anaerobios facultativos, capaces de causar infecciones graves y potencialmente mortales en los seres humanos. Es un microorganismo fermentativo no esporulado con una gran capacidad de supervivencia en condiciones ambientales adversas. Una de sus caracteristicas más relevantes en ámbito endodóntico es su capacidad para sobrevivir con mínimo suministro de nutrientes, lo que le permite adaptarse y persistir en ambientes sumamente hostiles, como los sistemas de conductos radiculares tratados o no tratados. En el caso de infecciones endodónticas persistentes, *E.faecalis* se aísla con frecuencia en los tubulillos del sistema de conductos, donde es capaz en algunos casos de resistir procedimientos de desinfección convencionales. Posee una elevada capacidad de adherencia a las paredes radiculares y distintos materiales endodónticos, como la gutapercha o cementos selladore, esta propiedad facilita la formación de biopelículas que actúan

como una barrera protectora o coraza resistente dificultando su eliminación y contribuyendo significativamente a la recidiva de infecciones (65).

E. faecalis también puede estar implicado en infecciones extraorales, como infecciones del tracto urinario, infecciones intraabdominales, bacteriemias y endocarditis (66). La virulencia de este microorganismo se atribuye a una combinación de factores secretados y propiedades presentes en su superficie celular, que le permiten adherirse a estructuras extracelulares y tejidos del huésped, invadirlos y participar en la formación de abscesos, uno de los mecanismos más relevantes en su patogenicidad es la capacidad de formar biofilm, proceso clave en la colonización e infección del huésped. Las biopelículas confieren a *E. faecalis* una resistencia significativamente mayor a los antimicrobianos, al estrés ambiental y a la respuesta inmune, lo que facilita la persistencia de la infección, los factores de virulencia asociados con esta especie incluyen; sustancia de agregación, que favorecen la adhesión entre células bacterianas y unión a tejidos del huésped como lo son; las serinas proteasas (sprE), gelatinasa (geIE), antigeno de polisacarido enterococico (epa), proteína de superficie enterococica (esp) y proteína de estrés general (gls24); Estos factores han sido detectados en conductos radiculares asociados con infecciones endodónticas resistentes al tratamiento, lo que explica la elevada capacidad de E. faecalis para persistir tras terapias de desinfección convencionales, factor por virulencia muy potente que se puede encontrar en cepas, se identificó por primera vez desde el antisuero de un paciente con endocarditis por *faecalis* (67).

2.5.1 Mecanismos de adhesión bacteriana.

Los factores de virulencia pueden facilitar la adherencia de los microorganismos a las paredes y superficies del conducto radicular, dificultando así su eliminación incluso después de la instrumentación. Además, también pueden causar daño al huésped de diversas maneras al estimular la exacerbación de la respuesta del tejido periapical. Los genes se pueden detectar en cepas de *E. faecalis,* y entre ellas se puede nombrar el gen que codifica la proteína de superficie extracelular (especialmente),que está

asociado con la pared celular y sirve como adhesina para la colonización del tejido del huésped; el gen que codifica la proteína fijadora de colágenas, que proporcionan información para la producción de la enzima convertidora de angiotensina y media la asociación de bacterias con la proteína de la matriz de la célula huésped (laminina y colágeno IV y I); el gen que codifica la sustancia de agregación, que es necesario para el contacto entre células durante la conjugación y para la adhesión a células eucariotas; el gen que codifica la gelatinasa (gelE), que es una metaloproteinasa de zinc que hidroliza gelatina, caseína, hemoglobina y otros compuestos bioactivos (68).

2.5.2 Formación de biofilm

Son conglomerados altamente organizados, formados por células bacterianas inmersas en una matriz polimérica extracelular autoproducida, unida a una superficie bucal, ya sea biológica o no biológica. También pueden considerarse como una capa de condensación de microbiota o una colectividad microorganismos que consiste en células que están irreversiblemente unidas a un sustrato o interfaz entre sí, embebidas en una matriz de polisacáridos extracelulares, acompañada de ADN extracelular (ADNe) y proteínas extracelulares, que en conjunto funcionan como un sistema de protección contra el estrés del exterior en un ambiente especifico. (8) La composición exacta varía con los microorganismos y nutrientes a disposición (69).

La formación de biopelículas de *Enterococcus faecalis* implica una intrincada interacción entre los factores de virulencia secretados, las proteínas de superficie, las moléculas de detección de quórum y los reguladores que rigen la liberación de ADN electrónico. Están involucrados en la adhesión bacteriana, la formación de biopelículas, la resistencia a la matanza y el daño tisular. La gelatinasa (GelE), un factor de virulencia crucial codificado por el gen gelE, es responsable de la degradación del colágeno y otras proteínas, al tiempo que facilita la liberación de ADNe al activar la principal autolisina AtlA. La citolisina, otro factor significativo, contribuye a la formación de biopelícula al lisar otras células bacterianas y liberar ADN electrónico,

promoviendo así la agregación bacteriana y la estabilidad dentro de la matriz de biopelícula (70).

2.6 ANTECEDENTES

La eficacia antimicrobiana de selladores de silicato de calcio (BioRoot RCS y Total Fill BC) contra una biopelícula multiespecie con estrés nutricional fue comparada contra cementos convencionales (AH Plus y Tubli-seal) contra bacterias planctónicas y una biopelícula multiespecie estresada por nutrientes compuesta por 5 cepas endodónticas: *P. acnes*, *A. radicidentis*, *S. epidermidis*, *S. mitis/oral* y *E. faecalis*. Mediante la prueba de contacto directo (DCT) y microscopía láser con focal de barrido (CLSM). El análisis CLSM mostró que BioRoot RCS y TotalFill BC exhibieron una inhibición significativa de la biopelícula en comparación con Tubli-seal, AH Plus y el grupo control (71).

La capacidad de ProRoot MTA, MTA Angelus, Biodentine, BioRoot RCS y el sellador Total-Fill BC para inhibir la formación de una biopelícula anaeróbica madura de *E. faecalis* y *S. mutans* formada por 21 días fue evaluada por la prueba de contacto directo mediante microscopía electrónica de barrido complementada con láser confocal. Se observó que biodentine y BioRoot RCS tuvieron una mayor acción antibacteriana e incluso Biodentine pudo mantener su acción antibacteriana después de un período de envejecimiento prolongado *in vitro*. El cemento reparador de silicato de calcio MTA ProRoot y Biodentine tuvieron una mayor acción antibiofilm (72).

Otro estudio comparó la actividad antibacteriana de los selladores endodóncicos a base de silicato de calcio (BioRoot RCS) y resina epoxi (Totalfill BC y AH Plus) contra biofilms de *E. faecalis*, a través de un análisis mediante microscopía confocal de barrido láser. Se observo que la actividad antibacteriana de BioRoot RCS fue significativamente mayor que la de los selladores Totalfill BC y AH Plus después de 30 días de exposición (73).

La actividad antimicrobiana de cinco selladores de conductos radiculares a base de silicato de calcio fue puesta a prueba contra una biopelícula diseñada de múltiples especies: por medio de un estudio *in vitro*. Se comparó el impacto de CerasealR, Total Fill BC SealerR, Bio-C SealerR, AH Plus BioceramicR y K-BiocerR en la eliminación de un biofilm endodóntico multiespecie a los 3, 7 y 14 días. Se observaron biopelículas multiespecie compuestas de *E. faecalis*, *Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa,* y *Candida albicans en*discos de hidroxiapatita. El resultado en orden ascendente en términos de su eficacia para eliminar bacterias fue: Sealite, Bio-C Sealer, AH Plus, CeraSeal, TotalFill y K-Biocer (74)

La eficacia antibacteriana a corto plazo de tres selladores de conductos radiculares biocerámicos: TotalFill BC Sealer; BioRoot RCS; MTA Fillapex se evaluó contra biopeliculas de *E. faecalis.* Estos se compararon contra AH Plus. Después de un tiempo de contacto de 60 minutos los discos de selladores se transfirieron a tubos estériles y se cultivaron durante 24 horas. Se contaron unidades formadoras de colonias (UFC). Total Fill BC Sealer y AH Plus tuvieron una mejor eficacia antibacteriana que los selladores BioRoot RCS y MTA Fillapex (75).

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

4.1 Pregunta de investigación

¿Existe diferencia en la cantidad de biopelícula formada por Enterococcus faecalis entre distintos cementos de reparación endodóntica?

5 JUSTIFICACIÓN

Cualquier estructura sólida que permanezca en contacto con fluidos, incluidos los materiales utilizados en el ámbito odontológico, tiene el potencial de convertirse en un sustrato para la colonización microbiana. Este proceso depende de la interacción de diversos factores, como los mecanismos de defensa del huésped, la presencia o ausencia de agentes antimicrobianos y las propiedades fisicoquímicas del material, entre ellas la rugosidad superficial y su composición química.

La capacidad de adherencia microbiana no solo condiciona la formación y estabilidad de biopelículas, sino también la supervivencia, reproducción y actividad metabólica de los microorganismos en dichos entornos. En los seres humanos, los órganos dentales representan las únicas estructuras duras expuestas de forma permanentemente a un medio líquido como la saliva, lo que los convierte en un sitio altamente susceptible a la colonización bacteriana. Esta colonización puede dar lugar a infecciones primarias, persistentes o recurrentes dentro del sistema de conductos radiculares y en los tejidos periapicales circundantes (76).

Dentro de este contexto, las perforaciones radiculares constituyen una de las complicaciones más relevantes en la práctica endodóntica, ya que generan una vía directa de comunicación con el periodonto, favoreciendo la contaminación bacteriana y comprometiendo el pronóstico del tratamiento si no se manejan de manera adecuada.

Enterococcus faecalis es una de las bacterias más frecuentemente asociadas a infecciones endodónticas persistentes, debido a su elevada capacidad de adherencia, formación de biopelículas resistentes y supervivencia en condiciones adversas. Su interacción con los materiales de reparación radicular representa un desafío clínico, ya que puede dificultar la erradicación de la infección y favorecer la recurrencia del proceso patológico. Por ello, la selección de un material que minimice la adhesión bacteriana es un factor crítico para el éxito del tratamiento.

A lo largo del tiempo se han desarrollado diversos cementos para la reparación de perforaciones radiculares, entre ellos materiales a base de hidroxido de calcio, fosfato de calcio y aluminato de calcio. No obstante, los cemento a base de silicato de calcio, como el MTA, han demostrado ventajas biológicas superiores, siendo además los primeros en ser aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) (55).

En este sentido, resulta relevante comparar materiales con diferentes trayectorias de desarrollo y posicionamiento en el mercado. Neo MTA Putty (Zarc, Avalon Biomed, EUA) es un cemento ampliamente documentado y de uso consolidado en la práctica clínica, mientras que Dia-Root Bio Sealer (Lothus, DiaDent, Corea del Sur) es un material de incorporación más reciente cuya evidencia científica sobre su comportamiento frente a microorganismos altamente resistentes, como *E. faecalis*, es limitada.

Por tanto, la comparación de adhesión bacteriana de E. faecalis sobre ambos cementos permite generar evidencia científica objetiva y cínicamente relevante, contribuyendo a una mejor comprensión de la interacción microorganismo-material. Los resultados de este estudio pueden apoyar la toma de decisiones clínicas informadas, mejorar el pronóstico de las reparaciones radiculares y fortaleces la práctica endodóntica basada en evidencia.

6 HIPÓTESIS

Existe una diferencia significativa en la cantidad de biopelícula formada entre los distintos cementos de reparación radicular.

7 OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la adhesión de *Enterococcus faecalis* a discos de cementos de reparación radicular.

7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la cantidad de bacterias que se adhieren a los cementos de reparación radicular.
- Comparar la adhesión bacteriana entre los cementos de reparación radicular.
- Observar la formación de la biopelícula de *Enterococus faecalis* en los cementos de reparación radicular.

8 MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 MODELO GENERAL DE ESTUDIO:

El estudio es de carácter mixto, ya que integra un enfoque cuantitativo, mediante la determinación y comparación de la cantidad de Enterococcus faecalis adherida a los cementos de reparación radicular, y un enfoque cualitativo, a través de la observación de la formación de biopelícula sobre la superficie de los materiales.

8.2 TIPO DE ESTUDIO:

Estudio experimental *in vitro*, prospectivo, transversal y comparativo.

8.3 MUESTRA:

La muestra estuvo constituida por discos de cementos de reparación endodóntica, elaborados bajo condiciones estandarizadas, correspondientes a cada uno de los cementos evaluados en el estudio.

Cada grupo experimental estuvo conformado por tres discos por tipo de cemento, los cuales fueron sometidos al mismo protocolo microbiológico para la evaluación de la adhesión y formación de biopelícula de *Enterococcus faecalis.*

8.4 TAMAÑO DE MUESTRA:

El tamaño de la muestra fue determinado a conveniencia, realizándose el análisis por triplicado (n=3) para cada grupo de cemento de reparación endodóntica evaluado, de acuerdo con protocolos previamente reportados en estudios microbiológicos *in vitro*.

9 METODOLOGÍA

9.1 Preparación de los discos de cementos de reparación endodóntica.

Se fabricó un molde de silicona autopolimerizable Zetalabor (Zherkmak, Italia), previamente calibrado a los milímetros requeridos; 2 mm de altura y 5 mm de diámetro, con técnica de prensado entre 2 losetas de vidrio, posteriormente a la plantilla se le realizaron perforaciones con ayuda de un capuchón de aguja perforado a modo de sacabocados (Figura1), el cual se usó para elaborar cuatro grupos experimentales por triplicado.

Se elaboraron un total de 28 discos de los diferentes cementos para la evaluación del biofilm adherido con UFC.

Para la visualización en microscopio electrónico de barrido (MEB) se prepararon 2 discos de cada grupo inoculados y otros 2 más de cada grupo sin inocular para ser observar las características del material en su preparación inmediata (como se realiza clínicamente) y después de un mes de preparación (envejecido).

Todos los discos se fraguaron en condiciones húmedas cubriéndolos en su totalidad con agua destilada conforme a los tiempos y especificaciones de cada fabricante.

Una vez conformados los discos se esterilizaron en luz UV durante 30 min.

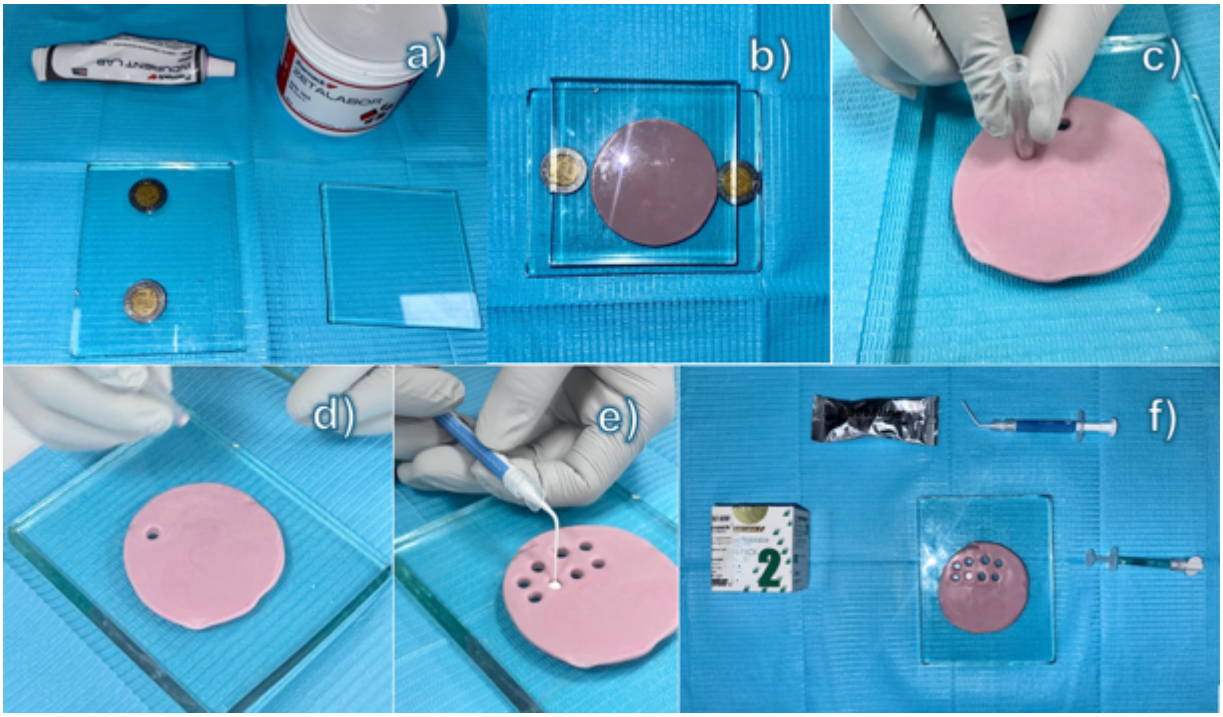


Figura 1. Elaboración de plantilla y discos de cementos a evaluar.

Material utilizado; silicona autopolimerizable Zetalabor, losetas y monedas de 5 pesos. (b) técnica de prensado con las monedas de referencia. (c)(d) perforación de plantilla con capuchón de aguja a modo de sacabocados. (e)(f) colocación de los cementos a evaluar en la plantilla y fraguado de los mismos en condiciones húmedas.

9.2 Preparación de bacteria y evaluación de las UFC.

Se empleo cepa de *E. faecalis* aislado clínico; donada por el Laboratorio de la Maestría de Endodoncia de la Facultad de Estomatología de la UASLP. Se activó cultivándose con medio caldo de soya tripticaseína (TSB) durante 24 h a 37°C por 2 días.

E. faecalis se preparó en una solución de bacterias en TSB con una concentración de $1.5x10^8$ UFC/mL en la escala 0.5 de McFarland (Figura 2). Tras alcanzar la concentración que se asemejara a la escala, el cultivo bacteriano se sometió a centrifugación a 4000 rpm durante 15 minutos tres veces para recopilación del sedimento bacteriano en el fondo del tubo a modo de pastilla, la cual posteriormente se suspendió en caldo TSB, empleando la técnica de vórtex para la disgregación de

biopelículas y la homogeinizacion en el medio (Figura 3) e interactuar la bacteria con los discos de cementos a evaluar por 48 horas (Figura 4).



Figura 2. Activación de la bacteria E. faecalis aislado clínico y ajuste de la concentración. (a). incubación de la bacteria por 24 hrs. (b) ajuste de la concentracion escala 0.5 de McFarland.

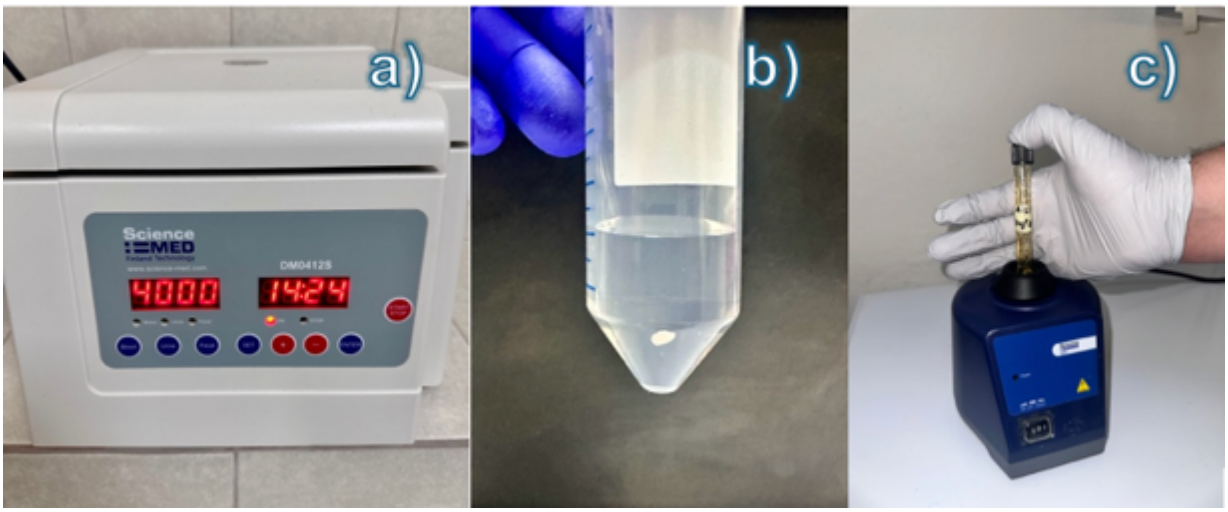


Figura 3. Obtención de pastilla bacteriana (a). Centrifugado bacteriano 3 veces por 15 minutos. (b) Obtención de sedimento bacteriano a modo de pastilla en tubo falcon con solución salina. (c) disgregación de la pastilla bacteriana en vórtex por 30 segundos en tubo de ensayo con TSB.

9.3 Preparación de biofilm sobre los discos para su observación in vitro.

Realizamos la interacción de los discos a evaluar con la suspensión bacteriana en medio TSB, en un ambiente estéril. Se añadieron los discos previamente lavados a pocillos rotulados en la placa de poliestireno de 24 pocillos estéril; a los cuales se les agrego 1 mL de suspensión de *E. faecalis* ajustada con anterioridad a la escala 0.5 de McFarland y se incubaron a 37°C durante 48 horas (Figura 4).

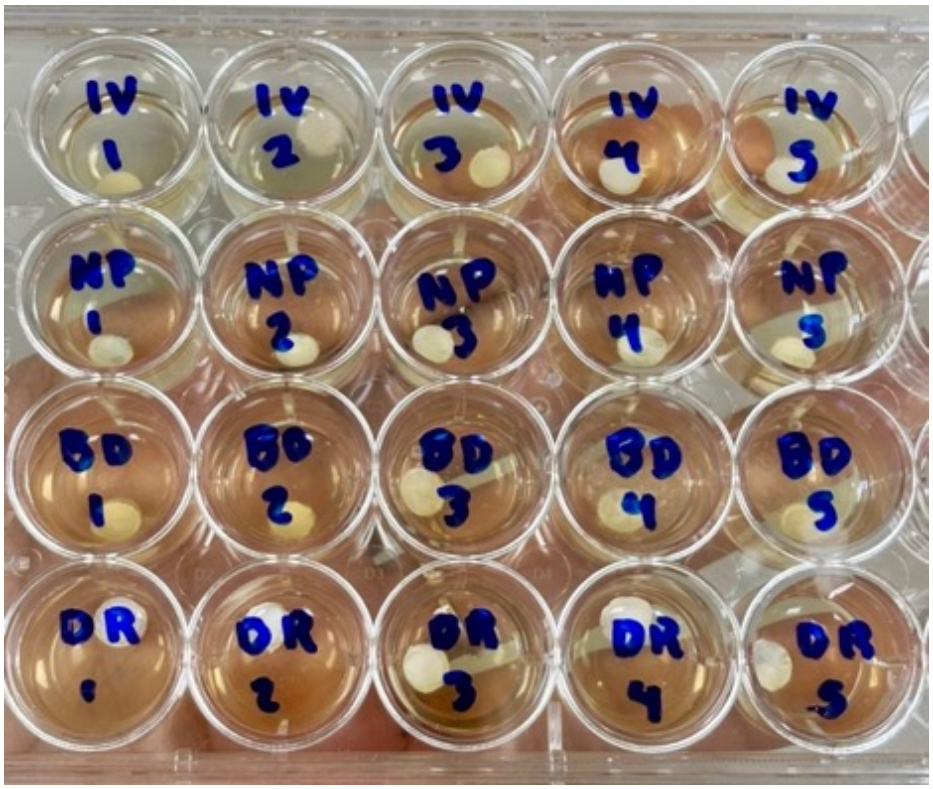


Figura 4. Interacción de la bacteria con los cementos a evaluar. Pastillas de cementos endodonticos de reparación evaluados; NP: (Neo PUTTY), BD: (BIODENTINE), DR: (DIA-ROOT) y de IV: (ionómero de vidrio) con E.faecalis en medio TSB después de 48 h de incubación.

Cumplido el tiempo de incubación se retiró el medio liquido TSB de los pocillos rotulados con una micropipeta sin tocar los materiales evaluados. Realizándose 3 lavados con solución salina para eliminar las bacterias no adheridas a los discos (Figura 5).

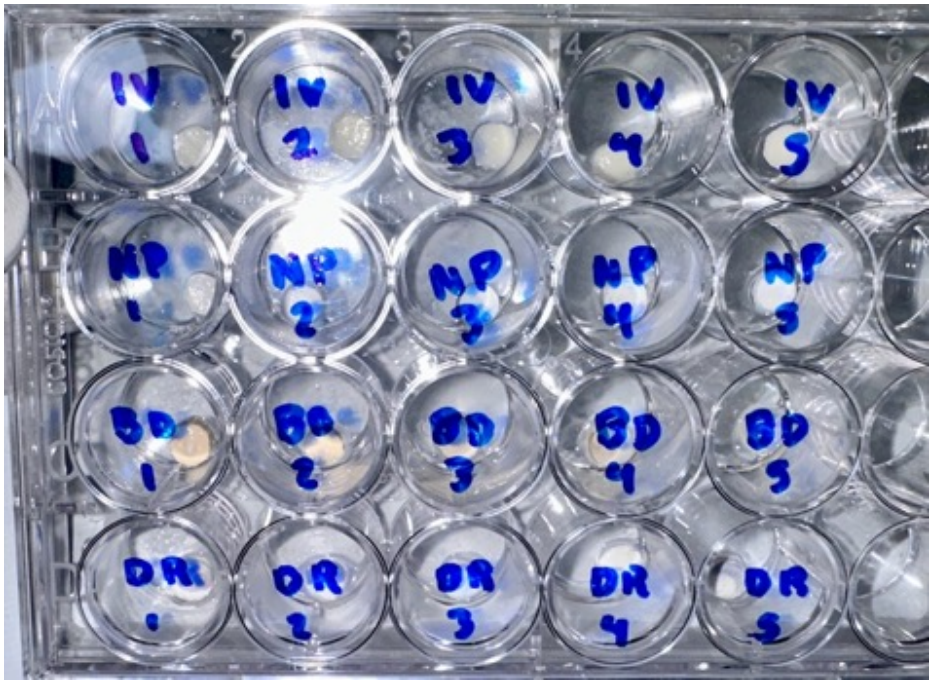


Figura 5. Lavado de discos con solución salina. Retiro de medio liquido TSB y bacterias no adheridas a los discos con 3 series de lavados.

Posteriormente se colocaron los discos en tubos eppendorf de 1.5 ml con 1 ml de solución salina en condiciones estériles, llevándose a vórtex por 30 segundos con ayuda de cronómetro, para la disrupción de biopelículas; y la obtención del sobrenadante (Figura 6). Se realizaron diluciones seriadas del 1 al 10 (Figura 7) de los primeros tubos eppendorf con las pastillas de cementos por triplicado (Figura 8).

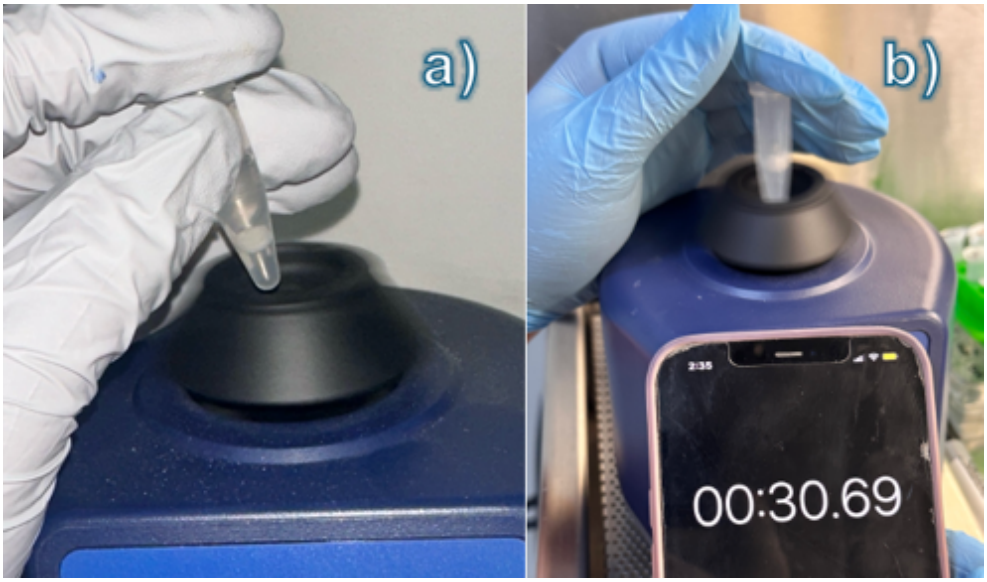


Figura 6. (a) colocación de tubo eppendorf con el disco evaluado al vortex. (b) Apoyo de cronometro para conteo de 30 segundos.

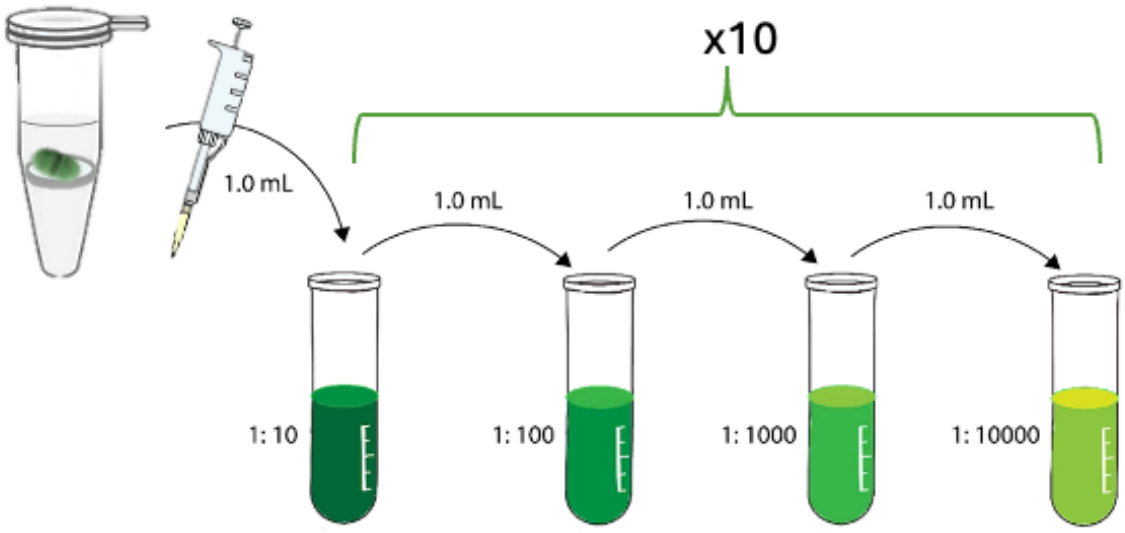


Figura 7. Diluciones seriadas 1:10.

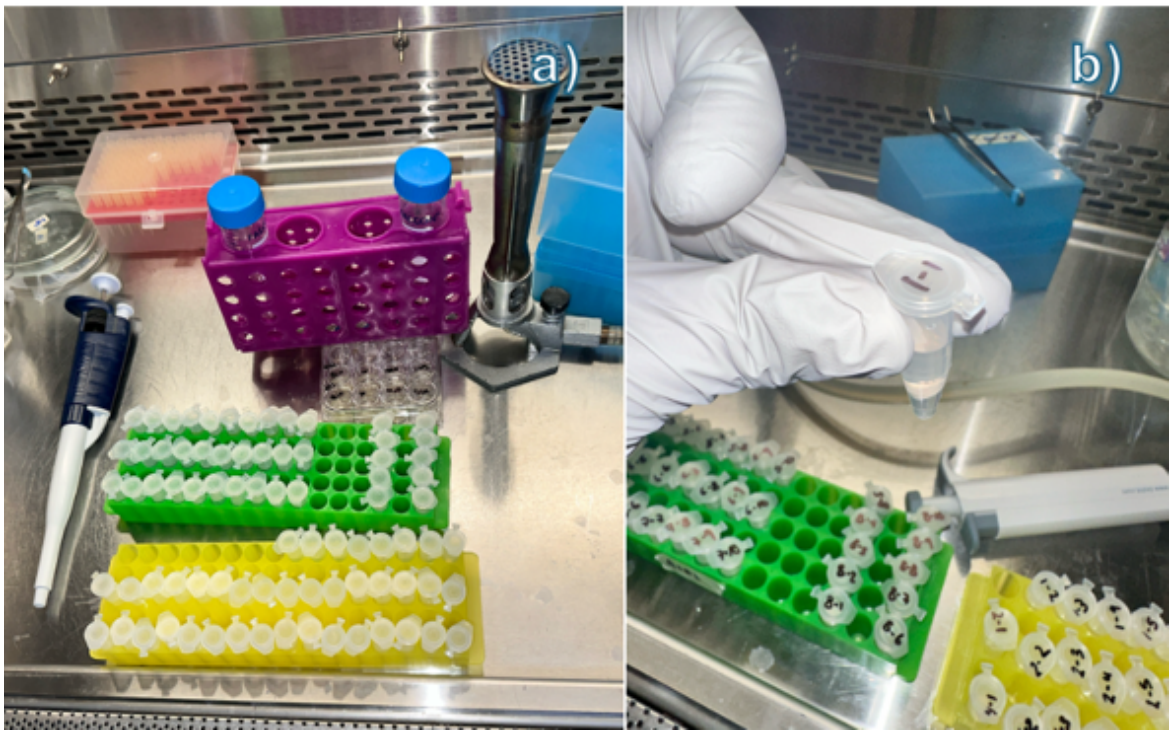


Figura 8. Triplicado de las soluciones. (a). Material utilizado durante la disolución. (b) Disoluciones seriadas por triplicado rotuladas durante el procedimiento.

Listas las diluciones seriadas de las pastillas en los tubos eppendorf, se procedió a su inoculación en cajas Petri previamente elaboradas (Figura 9) a modo de plaqueo bajo condiciones estériles las cuales se incubaron a 37 °C por 48 horas.



Figura 9. Elaboración de cajas Petri. (a) Pesaje del medio solido TSA deshidratado. (b) homogenización del medio sólido hidratado en agitador de placa caliente. (c) esterilización del medio en olla de presión. (d) vaciado del medio en cajas petri bajo condiciones estériles. (e) almacenaje de cajas petri con tapa hacia abajo para que precipitado no se forme en el medio sólido.

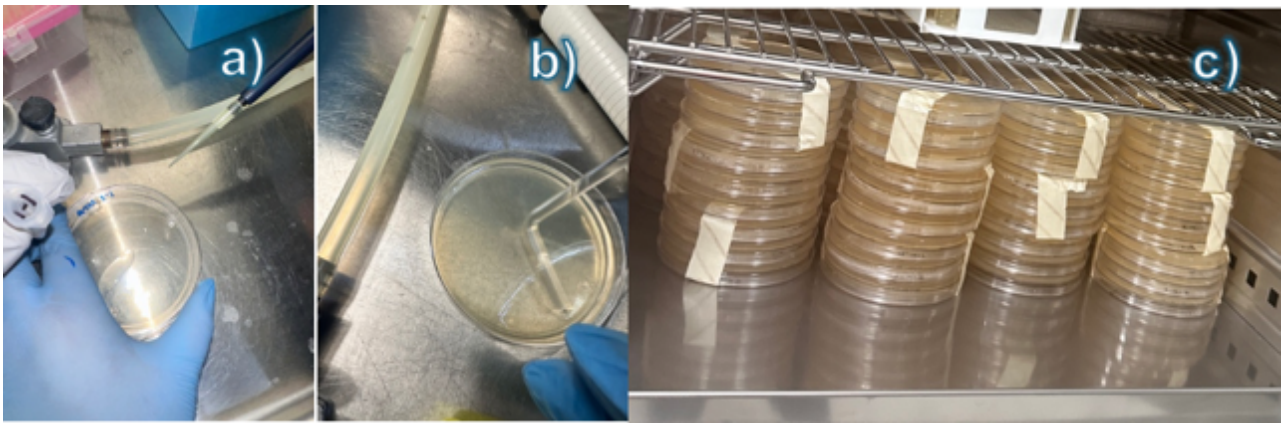


Figura 10. Plaqueo de cajas Petri. (a) Colocación de 1 ml de disolución en caja petri. (b) Plaqueo de cajas petri. (c) Incubación de cajas petri a 37 °C por 48 horas.

Cumplido el tiempo de incubación se procedió a realizar el conteo de las UFC de cada caja petri con ayuda de la aplicación ColonyCount (Figura 11). Obteniéndose los resultados a través del conteo y sumatoria de todas las UFC después de 48 h de incubación, los cuales se promediaron entre todos los grupos evaluados; los resultados se representaron como promedios ± desviación estándar, vaciándose en el Software Graphpad Prism v.9.

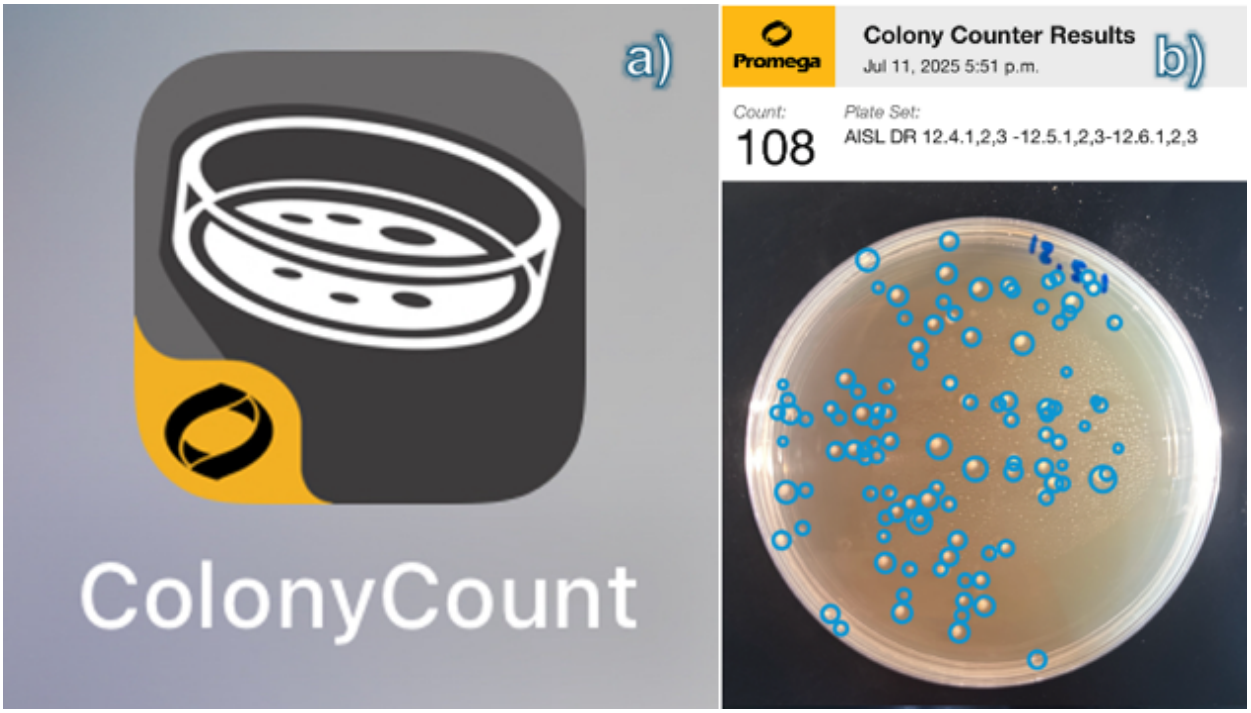


Figura 11. Aplicación utilizada para el conteo de las UFC. (a) logo de aplicación para el conteo de UFC. (b) Resultados del conteo de UFC por caja petri.

9.4 Evaluación en el microscopio electrónico de barrido (MEB)

Dos discos de cada grupo inoculados con *E. faecalis* y 2 más de cada grupo sin inocular (inmediato y envejecido) después de realizar el lavado con solución salina, fueron colocados en un buffer de glutaraldehído al 2,5 %. Esto se realizó con la finalidad de fijarlos y así preservarlos, evitando su degradación y realizar su traslado a las instalaciones del Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Facultad de Estomatología de la UASLP (Figura 12).



Figura 12. Colocación de cementos en glutaraldehído para su fijación y traslado.

En las instalaciones del laboratorio se procedió a la preparación de las muestras. Tras la fijación, se enjuagaron suavemente 3 veces cada una con un buffer de fosfato para eliminar el exceso de glutaraldehído y evitar cristalización. Posteriormente se realizó el secado en punto crítico y la deshidratación progresiva a base de etanol, para evitar el colapso estructural durante el secado:

• 20% → a 10 minutos.

• 40% → a 10 minutos.

• 60% → a 10 minutos.

• 80% → a 10 minutos.

• 90% → a 10 minutos.

Con el objetivo de retirar los restos de humedad se colocaron las muestras en un desecador con esferas de gel de sílice al vacío por 48 horas (Figura 13).



Figura 13. deshidratación con etanol y secado de las muestras. (a) serie creciente de deshidratación con etanol al 20, 40, 60, 80 y 90 % por 10 minutos de los discos evaluados. (b) secado de las muestras deshidratadas.

Las muestras deshidratadas totalmente secas se fijaron a pines de aluminio usando cinta doble cara de carbón conductiva, seguido del montaje dentro de la cámara del *Sputter coater* o recubridor por pulverización catódica, seleccionando el metal recubridor oro. Cerrada herméticamente la cámara, se inyectó gas (argón) activando la bomba de vacío, alcanzando la presión adecuada, se formó un plasma que se depositó uniformemente sobre las muestras. Después de 90 segundos se liberó la cámara lentamente y se retiraron los pines, en los cuales se revisó visualmente la uniformidad del recubrimiento, se colocaron en el portaobjetos del MEB, se selló herméticamente la cámara y se inició el sistema de vacío, posteriormente se procedió a configurar y alinear el equipo manualmente, en el cual las bacterias en las superficies de la muestra se observaron y se obtuvieron las micrografias (Figura 14).

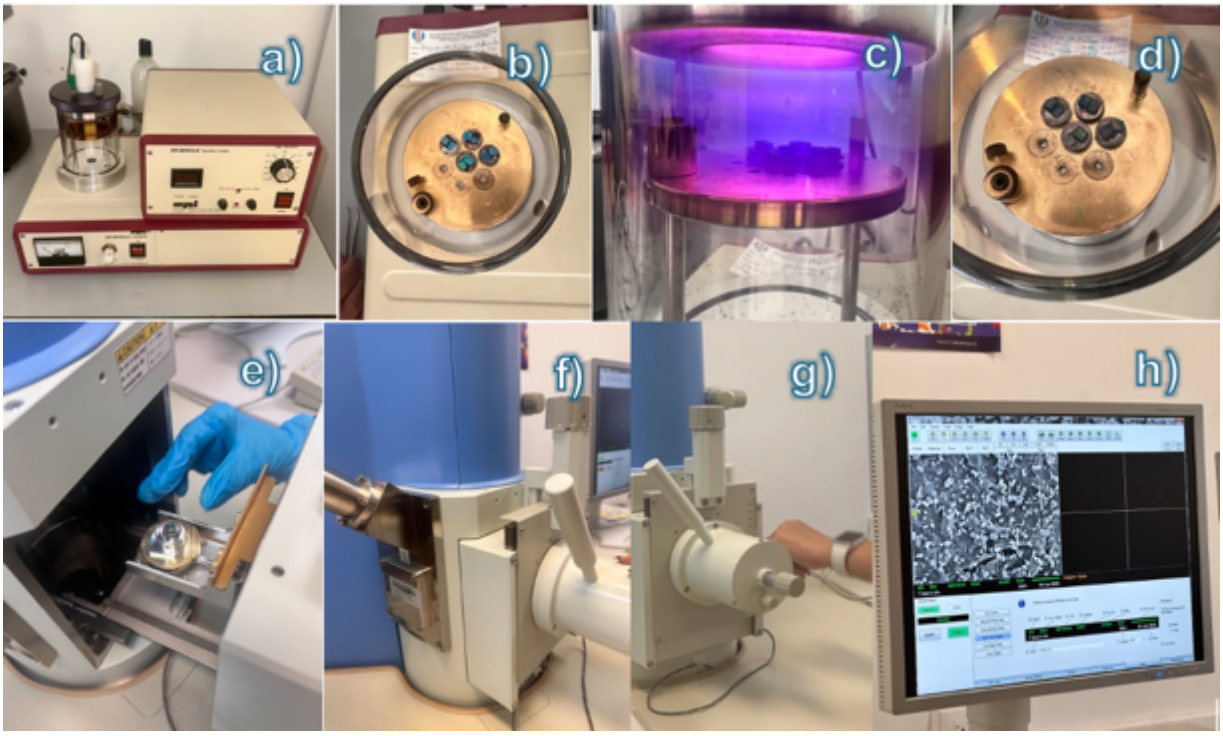


Figura 14. Obtención de micrografías de los cementos evaluados en MEB. (a) Sputter coater o recubridor por pulverización catódica utilizado para recubrir las muestras con una capa muy fina de oro para su visualización en el microscopio electrónico de barrido (MEB). (b) Muestras colocadas en las platinas dentro de la cámara de vacío. (c) Formación de plasma dentro de la cámara de vacío sellada con gas argón. (d) Muestras cubiertas con una película delgada y uniforme de oro listas para su retiro de la cámara de vacío. (e) Montaje de las muestras bañadas en oro en el portaobjetos de MEB. (f) Realización del sellado y vacío del MEB para su correcto funcionamiento. (g) Alineación manual de las muestras con el cañón de los detectores y electrones. (h) Ajustes y rotulación para la visualización y obtención de las micrografías.

10 VARIABLES DEL ESTUDIO

10.1 Variables independientes

Cementos de reparación endodóntica seleccionados para su evaluación.

10.2 Variables dependientes

UFC y biofilm adherido a cada uno de los discos de cementos de reparación radicular si es que sus propiedades permiten o no la colonización.

11 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla II. Operalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Clasificación metodológica	Clasificación matemática
Cemento de reparación	Materiales biocompatibles con la capacidad de inducir mineralización y efecto antibacteriano (55).	Bioactivos, bioinertes o biodegradables (16)	Variable independiente.	Cualitativa Nominal
UFC	Unidad de medida para la cuantificación o indicador de microorganismos viables en una muestra solida o líquida (77)	Conteo de UFC.	Variable dependiente.	Cuantitativa discreta de razón.

Biofilm adherido	Comunidad estructurada compuesta por exopolisacaridos, proteínas y ácidos nucleicos que protege al microorganismo de los factores externos que se adhiere a superficies vivas o inertes (78).	Volumen total en las superficies de la muestra se observarán y fotografiarán a través de MEB (79).	Variable dependiente.	Cuantitativa discreta de razón.

12 IMPLICACIONES BIOÉTICAS

El presente proyecto de investigación se realizó en apego estricto al reglamento de la ley de salud en materia de investigación y a los estatus de la Declaración de Helsinki. Se llevó a cabo el debido manejo de los agentes biológicos-infecciosos resultantes derivados de este estudio, mismos que se manejaron en términos, reglamentos y normas de la propia ley como por ejemplo la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, la cual establece los criterios para la protección ambiental a través de la clasificación, manejo, separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI) identificando como estos materiales los que contengan agentes biológicos capaces de causar daño, tales como; sangre y sus derivados, cultivos y cepas de microorganismos, materiales punzocortantes usados, tejidos y fluidos corporales y materiales contaminados con sangre o agentes infecciosos (80).

13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los ensayos se realizaron por triplicado, y los datos obtenidos se expresaron como media ± desviación estándar. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el Software GraphPad Prism versión 9.

Para la comparación de las diferencias entre los grupos experimentales se aplicó un análisis de varianzas (ANOVA) de un factor. Cuando se detectaron diferencias estadísticamente significativas, se utilizó la prueba post hoc de Tukey para comparaciones múltiples.

Se consideraron estadisticamente significativos aquellos valores con un nivel de significancia de $p<0.05$.

14 RESULTADOS

14.1 Evaluación de las UFC

La proliferación bacteriana fue evidente en todas las muestras inoculadas de los grupos experimentales evaluados. Después de 24 h de incubación; se realizó el conteo y la sumatoria de todas las unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas en cada grupo. Los resultados fueron procesados y graficados mediante el Software Graphpad Prism v.9; del cual la gráfica (Figura 15), nos muestra la comparación entre los grupos experimentales, donde se observó que la formación de colonias bacterianas fue menor en el grupo de control negativo Ionómero de vidrio en comparación con el grupo de control positivo Biodentine; en el cual se presentó una mayor proliferación de colonias bacterianas, indicando una diferencia estadísticamente significativa (p = 0.0284).

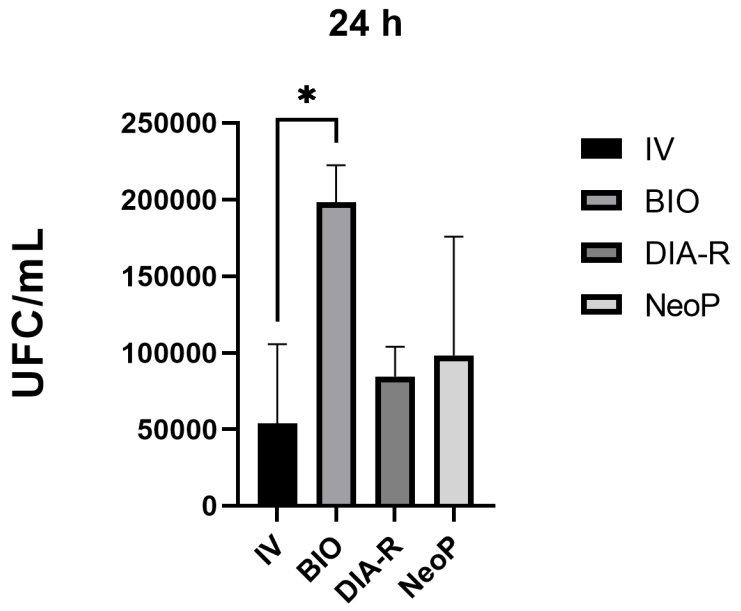


Figura 15. Gráfica de los resultados del conteo de UFC/ml. NP: (Neo PUTTY), BD: (BIODENTINE), DR: (DIA-ROOT), IV: (ionómero de vidrio), *p<0.05.

No obstante, el análisis mediante ANOVA unifactorial y comparaciones múltiples reveló que los grupos Neo PUTTY y DIA-ROOT no mostraron diferencias estadísticamente

significativas entre sí, ni respecto a los grupos controles tanto negativo (ionómero de vidrio) como positivo (Biodentine).

Se observó un incremento considerable en la muestra del grupo control positivo (Biodentine) (media 43,000 ± 24,093) en comparación a la muestra del grupo control negativo (Ionómero de vidrio) (media 95,200 ± 51,652) sin embargo, este resultado no fue estadísticamente significativo al realizar las pruebas de comparaciones múltiples.

14.2 Evaluación en MEB

Por lo anterior, al contrastar los resultados de los grupos experimentales con las micrografías obtenidas en el MEB, se constató una mayor adhesión de microrganismos en biodentine en comparación con el ionómero de vidrio y, así como una mayor adherencia en Neo PUTTY respecto a DIA-ROOT. Entre todos los materiales evaluados, biodentine mostró la mayor adherencia de microorganismos por otra parte DIA-ROOT presentó la menor cantidad de microorganismos adheridos a su superficie.

Las observaciones obtenidas mediante MEB permiten apreciar las características morfológicas de las superficies de cada material y su posible relación con el grado de adhesion microbiana detectada como se muestra en las figuras.

En relación con el IV Se observa superficie del ionómero de vidrio con textura heterogénea, múltiples fisuras y microgrietas, típicas de la contracción del material durante el fraguado. Los gránulos o depósitos redondeados pueden coincidir con precipitado mineral o biopelícula incipiente, posiblemente formados por los residuos bacterianos (Figura 16a). A mayor aumento, sé observa una superficie con fisuras anchas e irregulares que delimitan zonas con aspecto rugoso e irregular. Observándose cúmulos y estructuras globulares finas (Figura 16b). A 4000X, se observa superficie irregular y heterogénea, con presencia de aglomerados granulares y estructuras esferoidales de distintos tamaños, amorfas; posiblemente compatibles con residuos de matriz bacteriana (Figura 16c), por último, se aprecian concavidades y cúmulos con depósitos que podrían corresponder a restos bacterianos o biopelículas parcialmente desintegradas (Figura 16d).

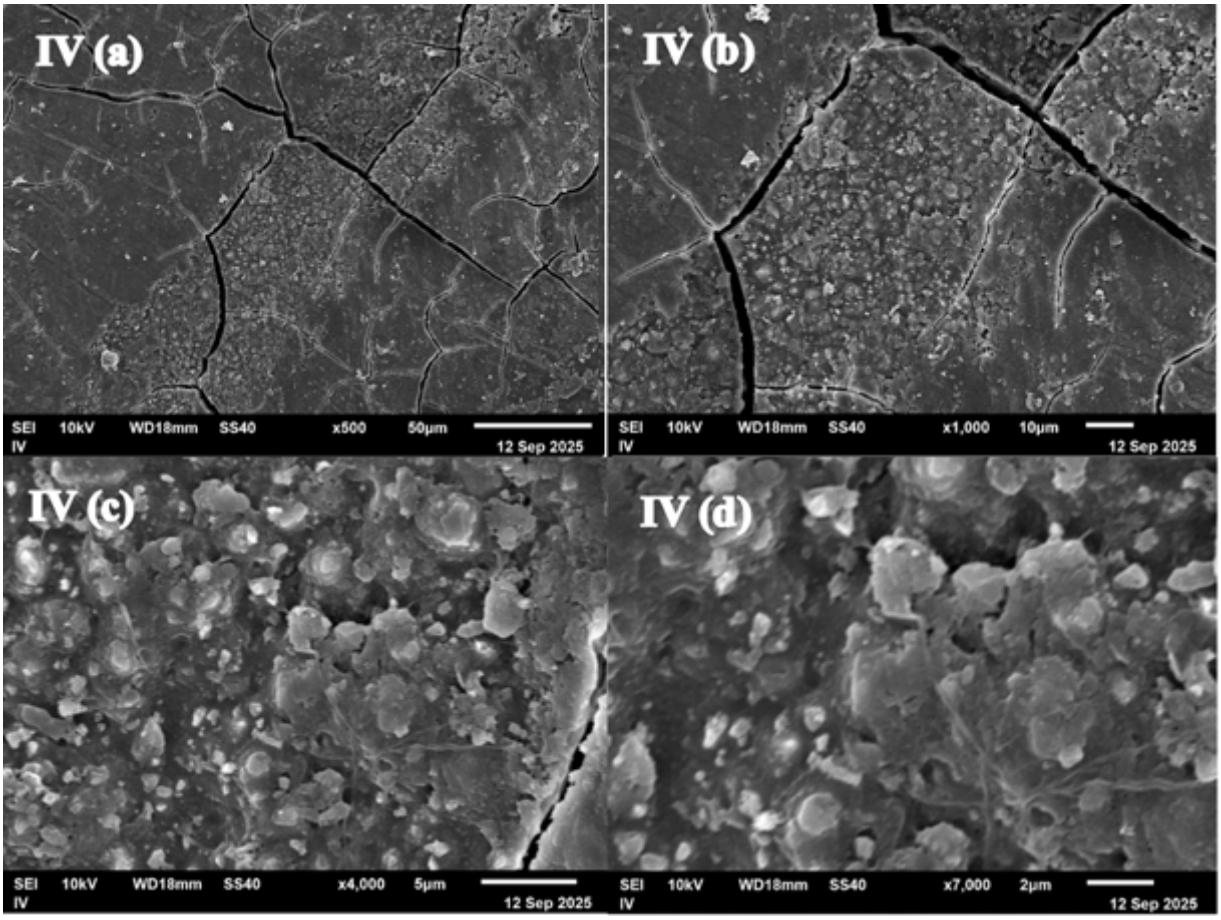


Figura 16. Micrografías del ionómero de vidrio; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

En el caso del Biodentine en la menor magnificación se observa que la superficie del material presenta una topografía lisa, porosa y zonas en islotes con micro relieves, además de una grieta posiblemente generada tras el fraguado del cemento. Mostrando una acumulación notable de biofilm firmemente adherido al sustrato (Figura 17a). A mayor magnificación se observa presencia de un biofilm bacteriano en forma de islote densamente continua y compacta, distribuida heterogéneamente sobre el sustrato (Figura 17b). A 4,000X la superficie se aprecia densamente colonizada por *E. faecalis* uniformemente distribuido y estrechamente agrupado, formando una capa compacta y continua; no se observan zonas lisas o libres de colonización (Figura 17c). Finalmente, a la mayor magnificación no se observan áreas libres de microorganismos, se

distinguen densamente acumulaciones de estructuras esféricas y amorfas en racimos y cadenas, formando una capa compacta de biofilm (Figura 17d).

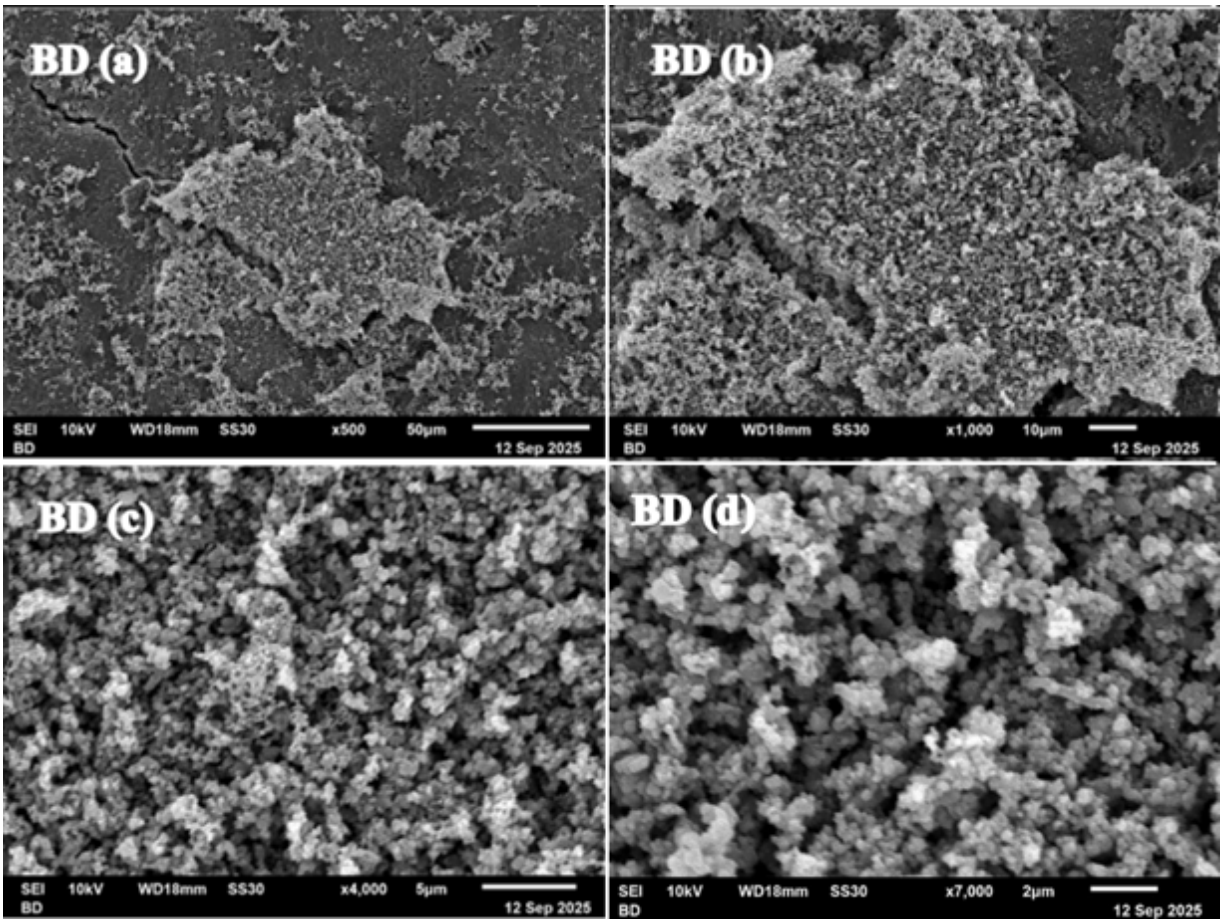


Figura 17. Micrografías de Biondentine: (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

En el caso de DiaRoot se aprecia una superficie compacta con micro-porosidades y rugosidades visibles dispersas e irregulares sin fisuras; que podrían corresponder a cristales del mismo material biocerámico. Con presencia de pequeños cúmulos e islotes que pudieran corresponder con biofilm o matriz extracelular conformada por *E. faecalis* (Figura 18a). Se observa una distribución de microporos y pequeños relieves con zonas de estructuras granulares finas, no se logra apreciar con claridad conglomeraciones bacterianas en la superficie (Figura 18b). La superficie presenta aglomerados irregulares y partículas compactas de distintas dimensiones lográndose

apreciar también; poros cerrados y relieves ondulados y continuos. Se muestra una distribución limitada de estructuras compatibles posiblemente con células o subproductos bacterianos (Figura 18c). A la mayor magnificación se distinguen estructuras o depósitos granulares y placas intercaladas fusionadas que sugieren la coalescencia del material durante la hidratación. Identificándose conglomerados bacterianos y algunas partículas pequeñas y ovoidales que podrían corresponder con restos bacterianos (Figura 18d).

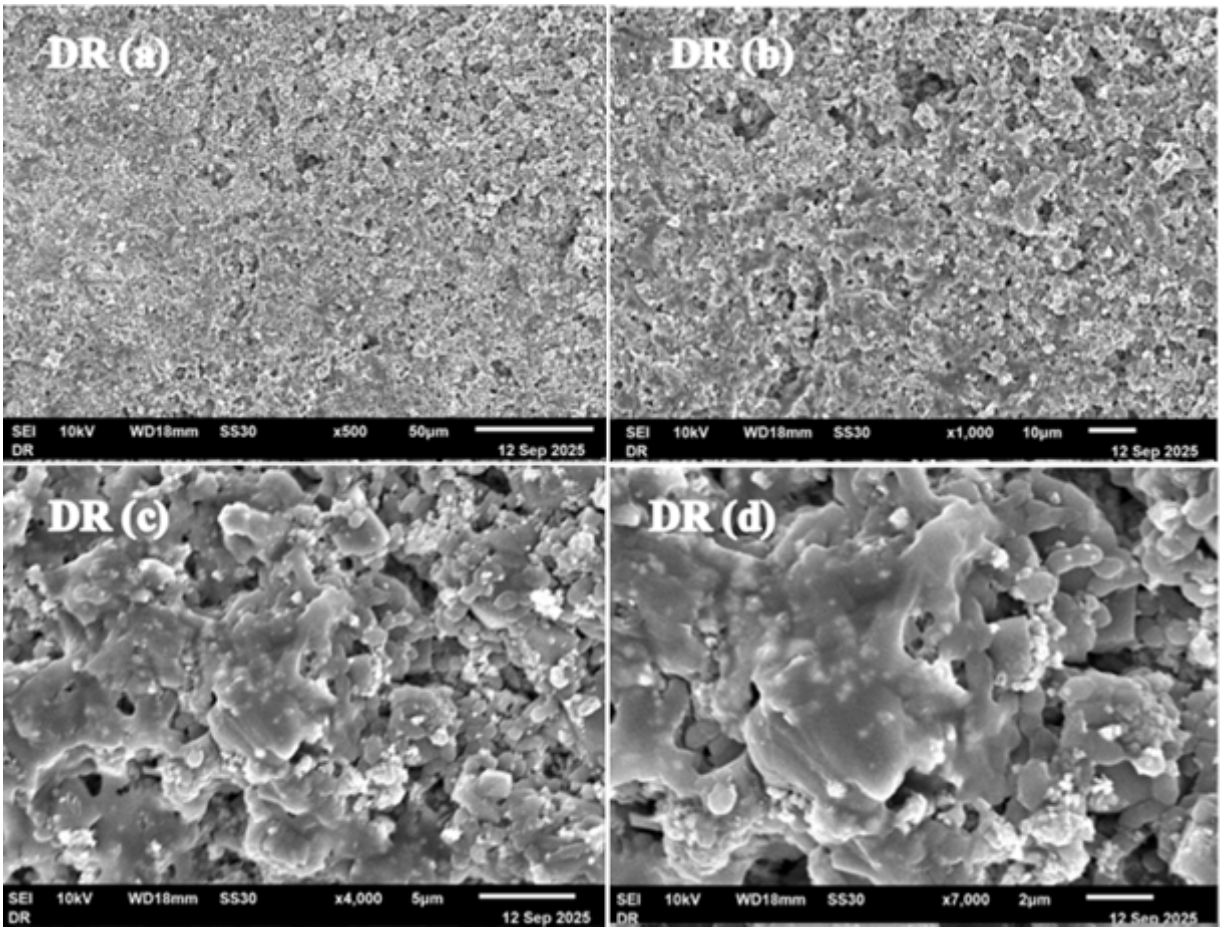


Figura 18. Micrografías de Dia-ROOT; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) 4000 X, (d) aumento a 7000

En el caso de NeoPutty a la menor magnificación se muestra superficie topográfica compuesta por cristales laminares, distribuidos de manera irregular con espacios, en los cuales se distinguen zonas de acumulación de material granular fino que pudiesen

corresponder con depósitos de minerales derivados del proceso de hidratación o posiblemente con microcolonias de *E. faecalis* (Figura 19a). A mayor magnificación la imagen muestra una disposición compacta de cristales laminares y en forma de placas superpuestas con cavidades intercristalinas, junto con aglomerados de partículas más finas que cubren parcialmente las estructuras mayores (Figura 19b). A 4,000X la topografía se aprecia compleja, elevada y rugosa en forma de placas con microespacios interlaminares que proporcionan un entorno adecuado para la adhesión bacteriana, observándose estructuras ovoidales diminutas, distribuidas sobre la superficie, especialmente en zonas accidentadas; la acumulación bacteriana parece concentrarse en las zonas donde se presentan microgrietas o depresiones (Figura 19c). Finalmente, sobre esta superficie puede identificarse numerosas estructuras esféricas adheridas directamente a los planos cristalinos y en los espacios interlaminares, adaptando una distribución no uniforme pero evidente; entre las zonas de interconexión de las láminas y los puntos de mayor irregularidad. No se evidencia presencia de matiz extracelular densa o estructuras propias de un biofilm maduro (Figura 19d).

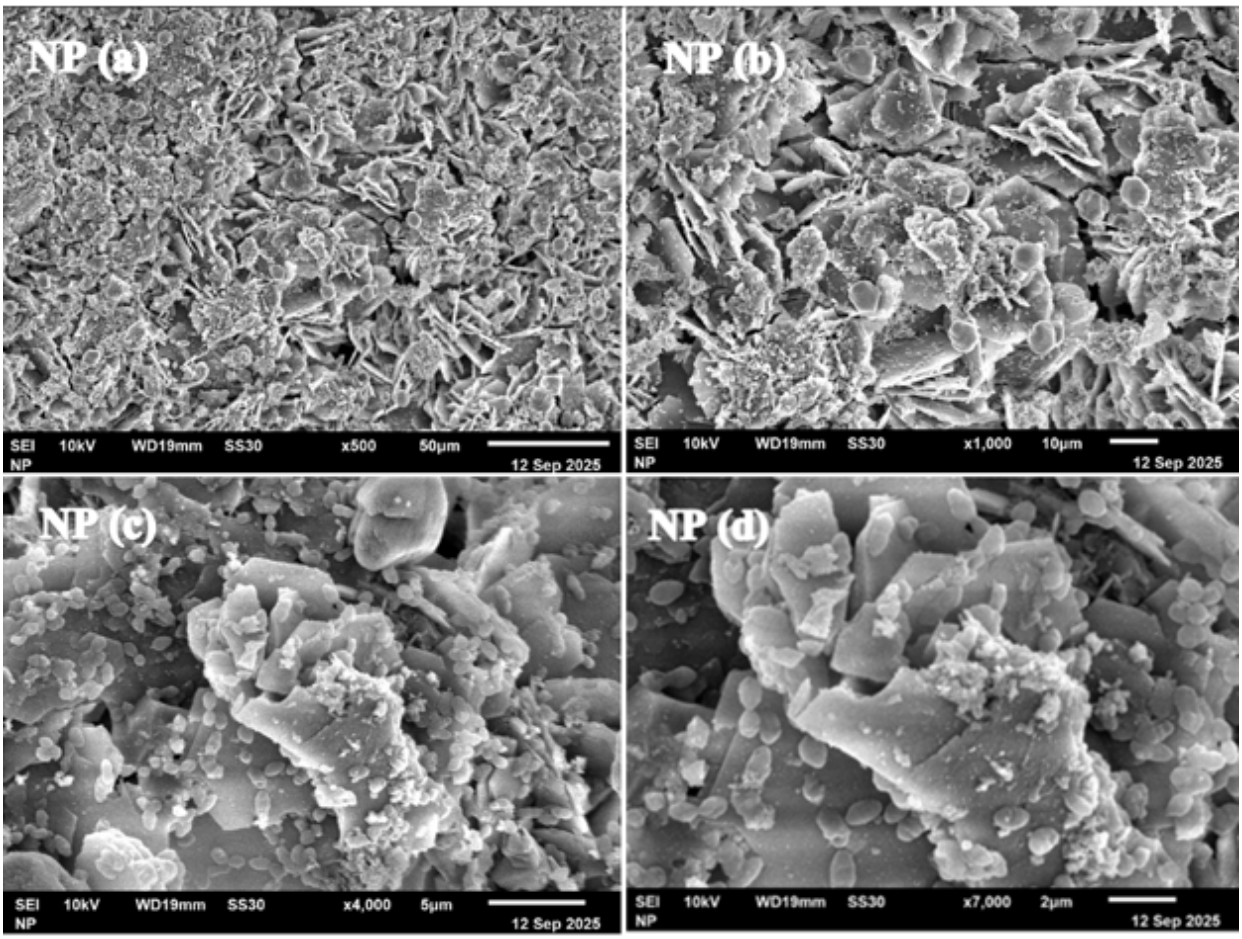


Figura 19. Micrografías de Neo PUTTY; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

14.3 Evaluación discos envejecidos

En el caso de ionomero de vidrio a 500 X, la superficie muestra una topografía marcadamente heterogénea, conformada por una red de fisuras amplias e irregulares distribuidas de manera no uniforme. Estas grietas pudiesen reflejar el proceso de contracción y tensiones internas del material posteriores al fraguado y envejecimiento. Los planos superficiales se observan relativamente laminares, lo cual evidencia la naturaleza vítrea y quebradiza del material (Figura 20a). Conforme se incrementa la magnificacion dichas fisuras adquieren mayor definición, mostrando bordes abruptos y profundidades variables, mientras que las zonas interfisura exhiben

una textura granular fina pudiendo estar asociada a la naturaleza vítrea y quebradiza del ionómero de vidrio (Figura 20b). Posteriormente la la superficie se observa de aspecto más erosionado y granular con partículas de diferentes tamaños y aglomerados irregulares. En este nivel es posible distinguir microdepósitos amorfos y relieves heterogéneos que sugieren la presencia de fases vítreas y poliméricas alteradas por la humedad ambiental (Figura 20c). Finalmente, a 7000x, la superficie muestra una topografía rugosa, formada por estructuras granulares finas, agregados amorfos y microprotuberancias distribuidas a lo largo de la toma. Observandose microespacios intergranulares, reflejando degradación superficial asociada quizas al envejecimiento (Figura 20d).

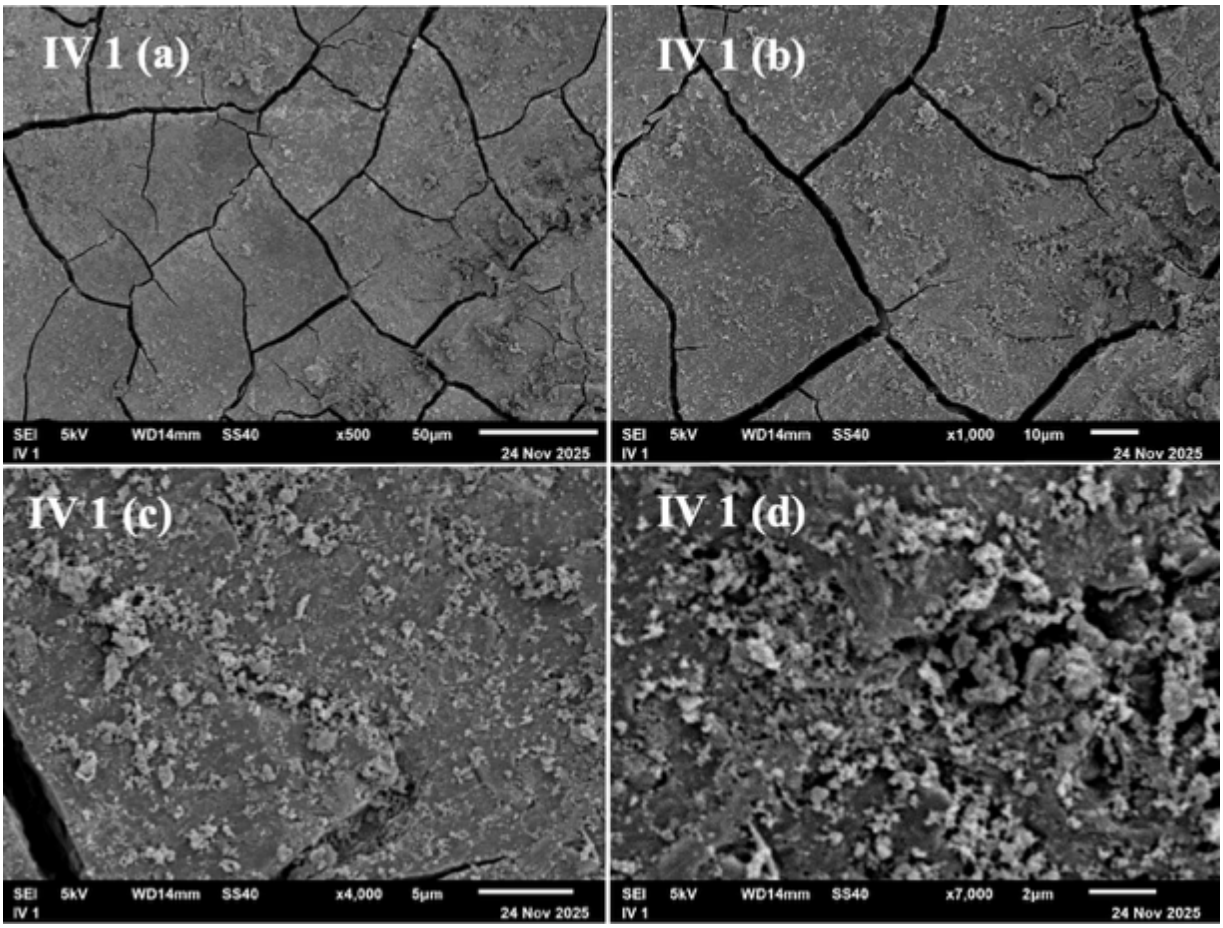


Figura 20. Micrografías de discos envejecidos del ionómero de vidrio; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

En el caso de Biodentine se observa una superficie heterogénea caracterizada por una matriz granular distribuida de manera irregular, con zonas compactas alternadas con áreas porosas que reflejan el posible proceso de hidratación y endurecimiento propio del cemento a base de silicato tricálcico. Esta apariencia inicial pudiese sugerir la presencia de cristales hidratados y depósitos minerales formados durante el envejecimiento (Figura 21a). Al incrementar la magnificación, la textura superficial adquiere mayor definición, distinguiéndose microagregados cristalinos y estructuras laminares en forma de mesetas. Las irregularidades y relieves presentes se observan como una superficie altamente rugosa (Figura 21b). Posteriormente, a 4000x, se evidencia una topografía notablemente más intrincada, compuesta por microesferas, mesetas, cúmulos irregulares y estructuras cristalinas aglomeradas que sugieren la presencia de hidroxiapatita o estructuras de hidratación secundarios. La superficie presenta múltiples cavidades y protuberancias que incrementan la rugosidad y revelan la naturaleza microporosa del Biodentine. Esta estructura compleja puede relacionarse con su capacidad bioactiva (Figura 21c). Finalmente, se observa una superficie dominada por cristales bien definidos, de morfología puntiaguda y granular fina, distribuidos en capas superpuestas. Estas estructuras forman un entramado denso de microcristales que refleja la actividad mineralizadora del material tras su envejecimiento de 30 días (Figura 21d).

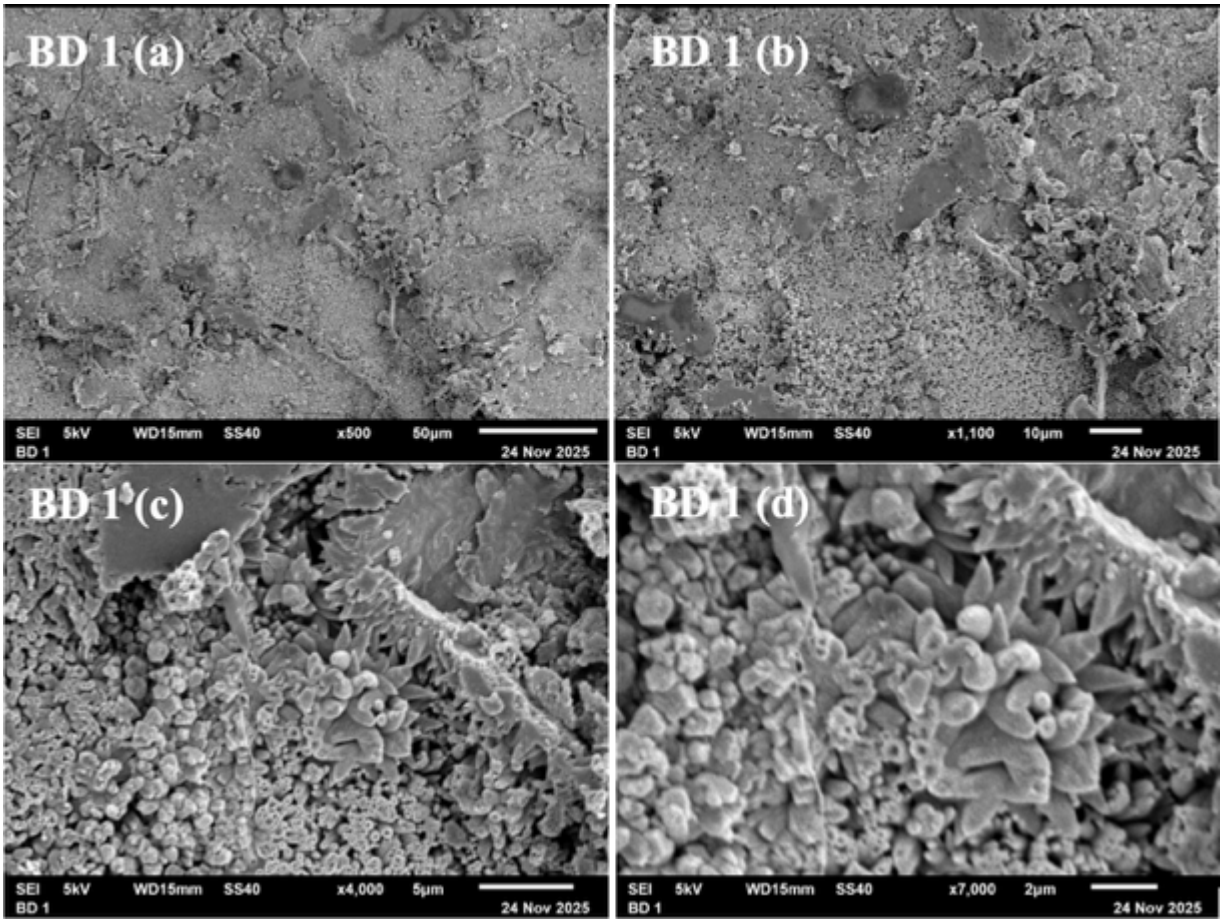


Figura 21. Micrografías de discos envejecidos de Biodentine; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

En el caso de Dia- ROOT se observa una superficie predominantemente compacta, compuesta por una superficie densa y continua con múltiples microporos distribuidos de manera irregular. Estas cavidades, de diferentes diámetros y profundidades, sugieren la presencia de una red intrínseca de porosidad que pudiesen ser propias del cemento biocerámico a base de silicato tricálcico. La apariencia general es rugosa, con agregados finos que conforman un relieve poco pronunciado pero muy perceptible (Figura 22a). Al incrementar la magnificación a 1000x, esta rugosidad se hace más evidente. La superficie muestra una disposición más clara de partículas cristalinas y aglomerados irregulares que podrían estar asociados al proceso de hidratación del material. Los microporos se observan con mayor definición como depresiones

interconectadas con un patrón topográfico más marcado (Figura 22b). Posteriormente, la superficie revela una textura altamente granular de diferentes tamaños, algunas disgregadas y otras fusionadas entre sí, lo que indica una superficie heterogénea pudiendo ser producto de la cristalización secundaria y del endurecimiento prolongado. Esta morfología sugiere la presencia de cristales de silicato tricálcico hidratado y posibles núcleos de hidroxiapatita. La topografía se aprecia más intrincada, destacando microrelieves que aumentan la rugosidad general del material (Figura 22c). Finalmente, la superficie muestra un patrón densamente compacto compuesto por conglomerados irregulares, microestructuras amorfas y partículas finamente distribuidas, sin presencia de vacíos amplios ni fisuras definidas. La microtextura revela un acabado homogéneo y fino, posiblemente resultado del envejecimiento del material. (Figura 22d).

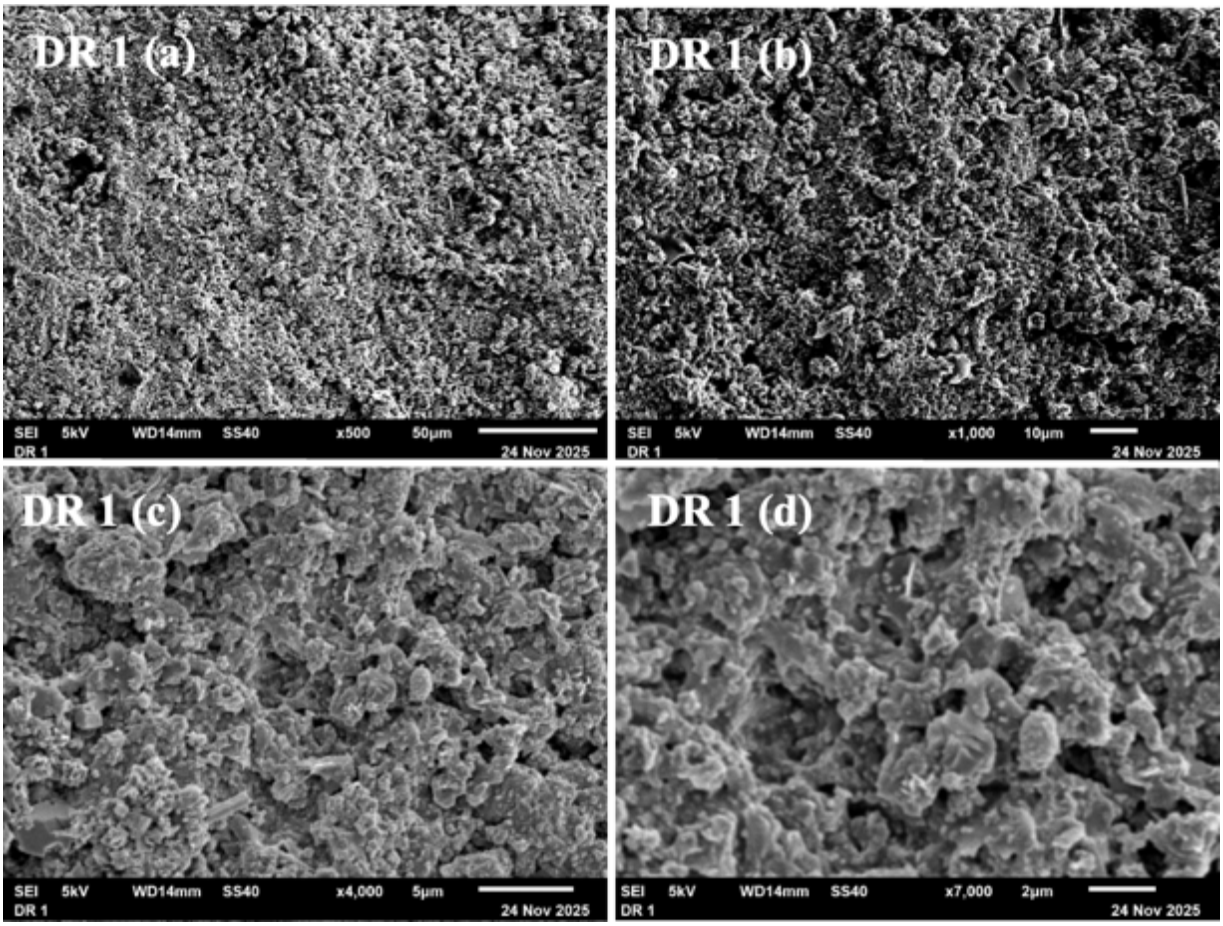


Figura 22. Micrografías de discos envejecidos de Dia-ROOT; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

En el caso de Neo-PUTTY, se aprecia una superficie con una morfología altamente característica, definida por la presencia de estructuras laminares y placas cristalinas que se evidencian desde los primeros niveles de aumento. En primer lugar, a 500x se observa una topografía heterogénea formada por amplias láminas irregulares que se superponen entre sí, intercaladas con fragmentos angulares y áreas con partículas finamente dispersas. Esta disposición podría reflejar la naturaleza plástica inicial del material, seguida de su posterior endurecimiento y cristalización durante el proceso de fraguado o envejecimiento (Figura 23a). Al incrementar la magnificación, las láminas se observan con una definición más clara, mostrando bordes abruptos y superficies planas, pudiendo ser características de los cristales derivados del silicato tricálcico hidratado. Entre estas placas se observan microdepósitos granulares que rellenan parcialmente los espacios interlaminares, lo cual pudiera sugerir la presencia de

subproductos de hidratación acumulados durante el envejecimiento. La superficie en este nivel continúa siendo rica en relieves y variaciones texturales (Figura 23b). Posteriormente, se aprecia un aumento notable en la complejidad de la superficie. Los fragmentos laminares se observan con mayor detalle estructural, acompañados de pequeños conglomerados granulares que se distribuyen sobre las superficies y en los espacios entre cristales. La rugosidad se hace más marcada, debido a la presencia de microfracturas, bordes irregulares y microespacios que podrían contribuir a la interacción con fluidos o agentes externos en condiciones funcionales (Figura 23c). Finalmente, a 7000x, la topografía del Neo PUTTY se observa con una superficie dominada por grandes cristales laminares y microestructuras anguladas unidas entre sí. Con cristales planos definidos y superficies relativamente lisas con cúmulos de partículas pequeñas, irregulares y finamente distribuidas. La microestructura observada pudiera ser consistente con un biocerámico bioactivo que continúa desarrollando fases cristalinas durante su envejecimiento (Figura 23d).

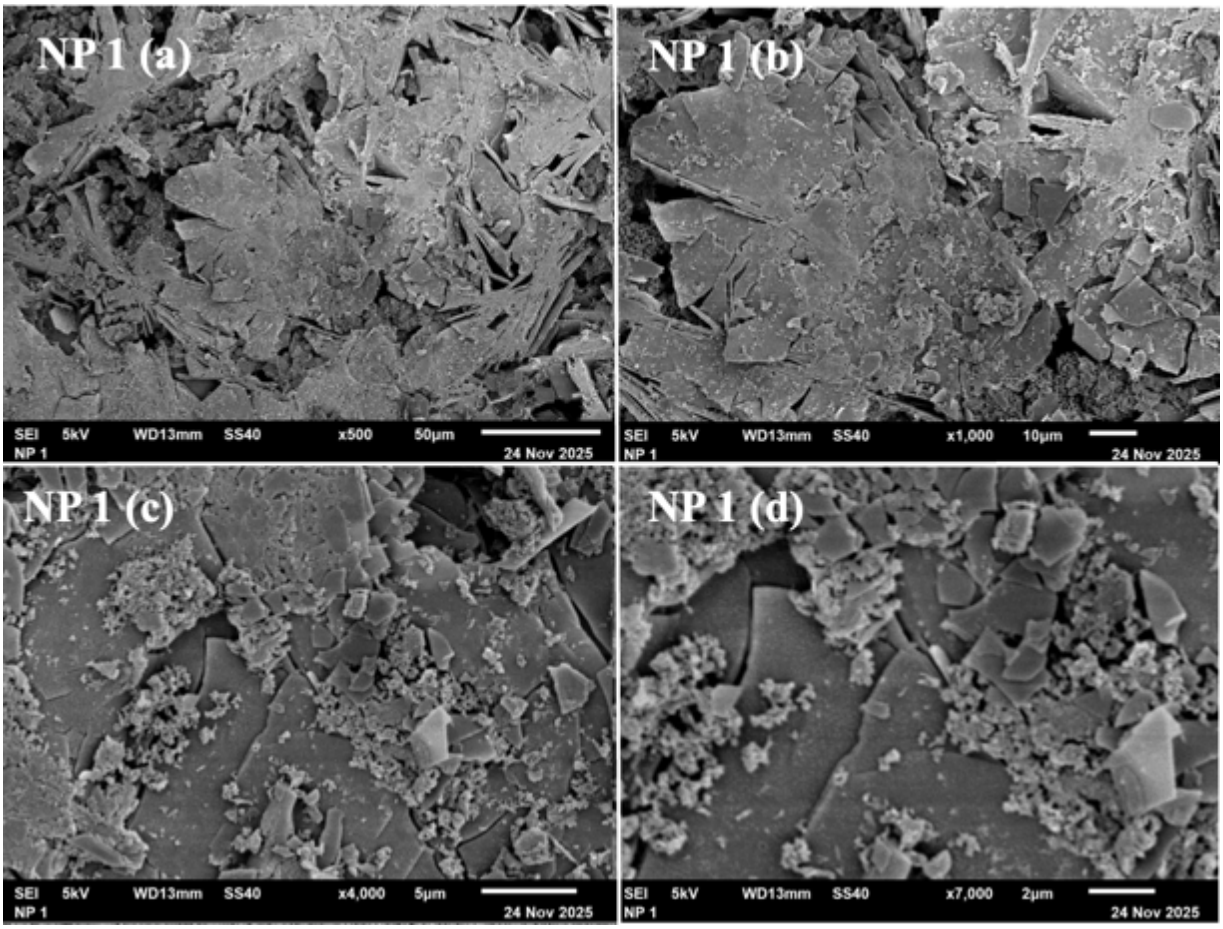


Figura 23. Micrografías de discos envejecidos de Neo PUTTY; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

14.4 Evaluación discos de preparación inmediata

Las micrografías del ionómero de vidrio recién preparado, permiten apreciar con claridad la morfología inicial del material antes de cualquier proceso de envejecimiento o interacción microbiológica. A 500x, la superficie se caracteriza por una red amplia de fisuras irregulares que se distribuyen en forma de patrones poligonales, típicos del fraguado ácido-base del ionómero. Estas grietas reflejan la contracción inicial del material durante el endurecimiento, generando zonas delimitadas por placas rígidas y relativamente lisas (Figura 24a). Posteriormente estas fisuras adquieren mayor definición, mostrando bordes abruptos y surcos profundos que delimitan fragmentos superficiales bien compactados. La microtextura continúa siendo predominantemente lisa, aunque se evidencian pequeñas irregularidades y discontinuidades pudiendo ser por producto de la reacción ácido-base entre el vidrio y el componente poliácido. La ausencia de microagregados o cúmulos indica un fraguado inicial estable y uniforme (Figura 24b). A 4000x, la superficie se aprecia con un patrón mucho más homogéneo, una topografía lisa y microabrasiva, se observan partículas extremadamente finas distribuidas en la superficie sólida. Presenta un relieve mínimo, sin poros definidos ni fracturas adicionales bien compactado, pudiendo ser compatible con las características del ionómero recién preparado. Las líneas visibles en la estructura pudiesen corresponder a microtrazas del proceso de fraguado y acomodación interna del material (Figura 24c). A mayor magnificación, 7000x, se observa una superficie microtexturada, compuesta por estriaciones finas y áreas planas contiguas que forman una superficie uniforme. No se aprecian cristales prominentes ni estructuras amorfas agregadas, lo cual es característico de los ionómeros de vidrio en su fase inicial, ya que estos materiales no presentan formaciones cristalinas de gran tamaño, a diferencia de los cementos biocerámicos. La superficie se mantiene compacta y continua (Figura 24d).

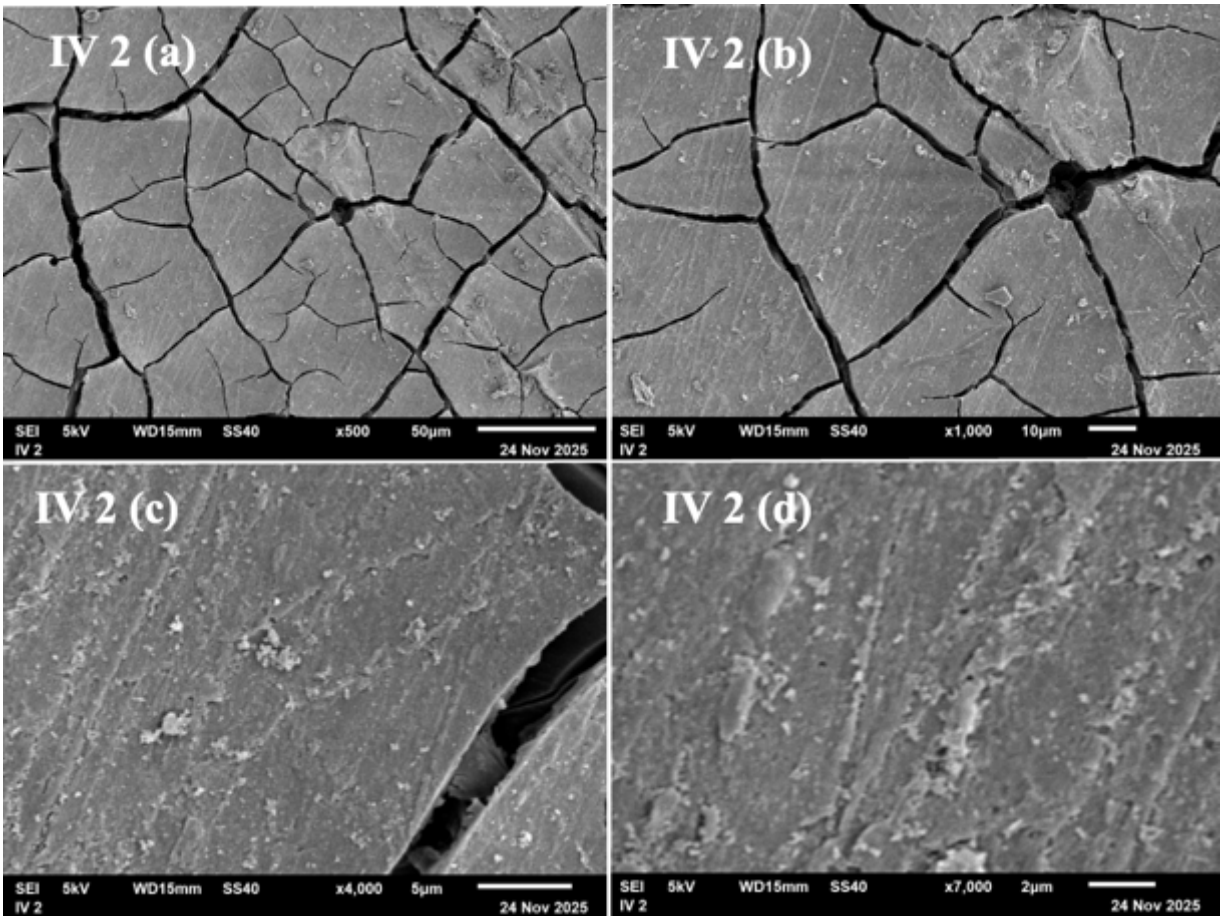


Figura 24. Micrografías de discos de preparación inmediata del ionómero de vidrio; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

En el caso de Biodentine, la imagen obtenida a 500X, nos muestra una superficie heterogénea, de aspecto granular fino y distribución irregular con distintos relieves, pudiendo ser típica de los discos recién preparados. La topografía es compacta y no se observan fisuras amplias ni poros abiertos, sino depresiones superficiales menores que pudieran resultar derivadas de la manipulación del material (Figura 25a). Al aumentar a 1000X, la superficie nos revela con mayor claridad la presencia que podrían deberse a partículas de silicato tricálcico parcialmente hidratadas, con un patrón rugoso y homogéneo. Se distinguen microagregados distribuidos de manera continua, así como pequeños nódulos que pudiesen corresponder al inicio de la formación de (silicato de calcio hidratado). La superficie sigue siendo compacta y uniforme, sin alteraciones o depósitos extraños (Figura 25b). Posteriormente comienzan a hacerse visibles las primeras estructuras cristalinas que pudieran ser

resultantes propias del proceso de hidratación, destacando cristales irregulares amorfos finos que emergen entre las partículas más grandes aún no totalmente hidratadas. También se observan láminas irregulares compatibles con subproductos cálcicos, otorgando un aspecto más tridimensional a la topografía (Figura 25c). Finalmente, el Biodentine exhibe con gran detalle una red densa de cristales de aspecto puntiagudo y formaciones dendríticas, que se tornan posiblemente la consolidación del silicato de calcio en sus primeras fases. Entre estos cristales se observan partículas laminares más grandes, posiblemente remanentes del proceso de fraguado parcialmente hidratado. La superficie se torna de un aspecto interconectado y complejo, lo que pudiese ser representativo del material en su morfología natural durante el fraguado inicial (Figura 25d).

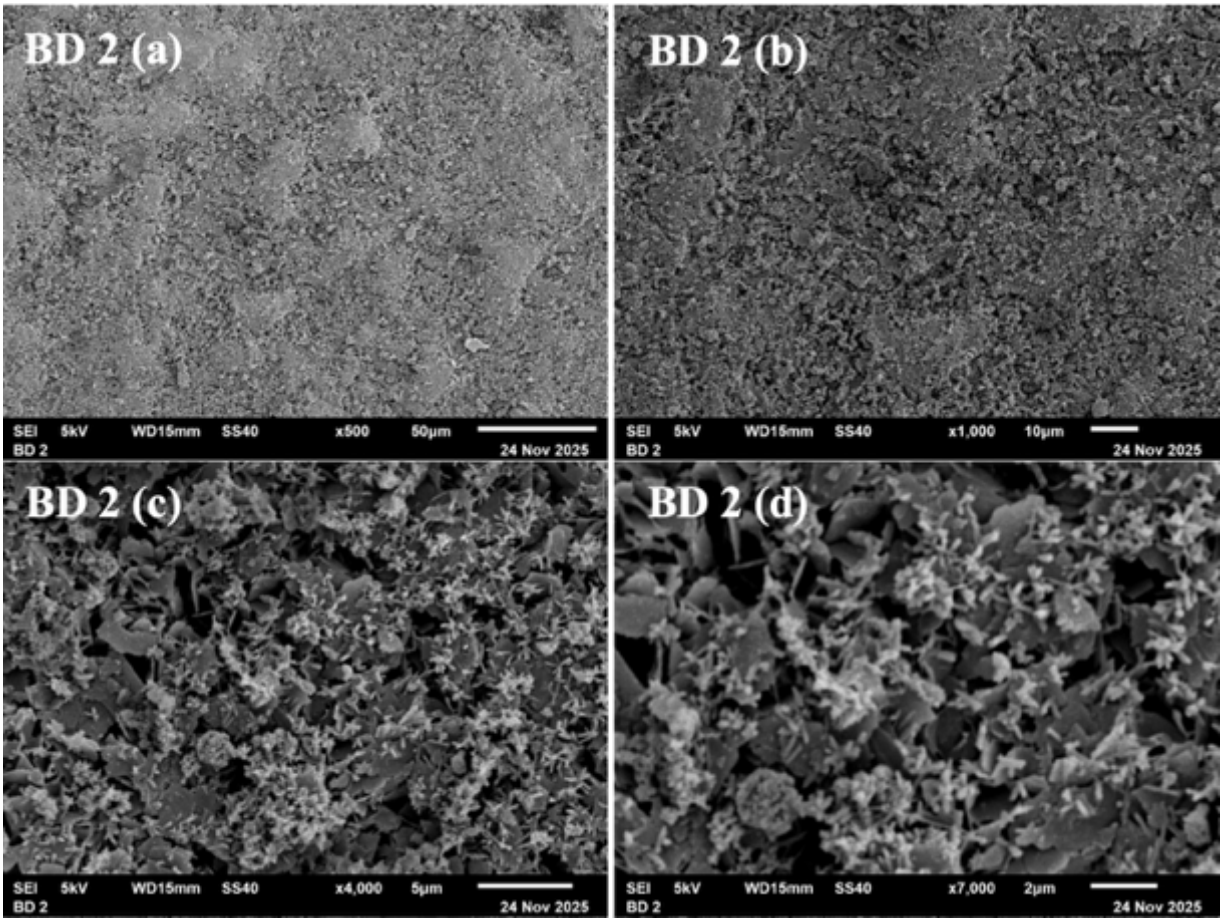


Figura 25. Micrografías de discos de preparacion inmediata de Biodentine; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

En el caso de Dia-ROOT, se aprecia una superficie relativamente homogénea y compacta, conformada por un conjunto de partículas finas que generan una textura rugosa continua. La distribución de los granos es uniforme, sin evidencia de fisuras profundas, colapsos estructurales o contaminación superficial. Esta vista general pudiese reflejar la etapa inicial de consolidación del cemento, donde las partículas aún conservan parte de su morfología original previa a la hidratación completa (Figura 26a). Posteriormente la rugosidad superficial se vuelve más evidente, mostrando pequeñas elevaciones y depresiones, se distinguen con mayor claridad aglomerados de partículas de diferente tamaño, algunos de ellos en forma de nódulos densos que pudieran corresponden a silicato tricálcico parcialmente hidratado. La superficie mantiene un patrón granular, pero se observan algunas zonas con agregación más marcada, lo que tal vez llegara a ser el inicio de la interacción entre las partículas y la formación temprana de los productos de hidratación (Figura 26b). Con el aumento a 4000X, la topografía se observa con mayor complejidad. Apreciándose fragmentos y placas irregulares, algunos con bordes definidos y otros parcialmente erosionados, lo que correspondería a el proceso de hidratación inicial del cemento. La superficie está constituida por una mezcla de partículas más grandes, posiblemente restos de material sin hidratar por completo, junto con estructuras más finas adheridas sobre ellas. Aunque el material no exhibe aún cristales completamente desarrollados, sí muestra una estructura más abierta y tridimensional, reflejando el avance de la hidratación en sus primeras horas (Figura 26c). Finalmente, a 7000X, la microestructura revela una distribución aún más detallada de partículas laminares, fragmentos irregulares y microagregados densos, que en conjunto forman una superficie heterogénea y compleja. Se observan superficies rugosas, con múltiples puntos de adherencia entre partículas, lo cual es característico de los cementos biocerámicos en fase temprana de fraguado. Aunque la cristalización no presenta morfologías aciculares tan prominentes (Figura 26d).

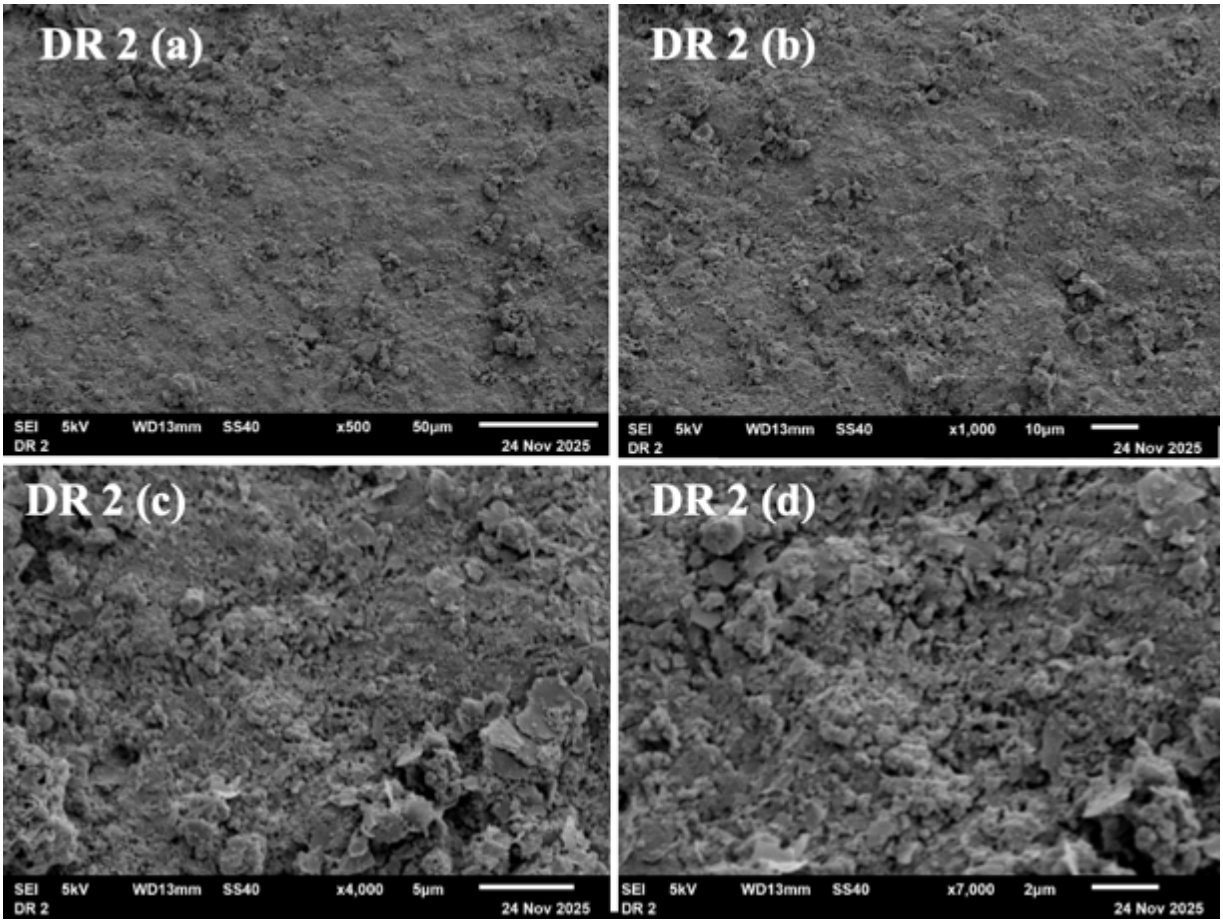


Figura 26. Micrografías de discos de preparación inmediata de Dia-ROOT; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000 X.

En el caso de Neo PUTTY, la superficie presenta una topografía heterogénea, con zonas más compactas y otras más abiertas, donde se distinguen áreas de aspecto masivo y ligeramente liso que contrastan con regiones granuladas y fragmentadas. En particular, se observa una placa amplia y continua rodeada por material granular, lo que sugiere zonas aún sin hidratación completa o áreas donde la pasta posiblemente se alisó durante la manipulación o colocación en la plantilla de silicona. No se identifican poros profundos ni elementos extraños (Figura 27a). A 1000X, la superficie se observa más detallada y se aprecia un patrón predominantemente grumoso y densamente empaquetado, correspondiente a partículas finas aglomeradas posiblemente característica de los cementos biocerámicos premezclados. Se observan microfragmentos y partículas distribuidas de manera uniforme, sin estructuras cristalinas definidas en esta fase temprana. La textura se observa irregular,

con pequeñas elevaciones y depresiones que reflejan la distribución heterogénea de los componentes sólidos del cemento (Figura 27b). Posteriormente se observa una topografía más compleja, compuesta por partículas laminares de mayor tamaño, fragmentos irregulares y estructuras compactas que se superponen entre sí. La superficie muestra una combinación de placas densas con bordes relativamente bien definidos y zonas con microgrumos más finos adheridos, lo cual es congruente con la composición que nos menciona el fabricante, que suele presentar agregados grandes mezclados con partículas finas sin hidratar completamente. Esta magnificación permite observar una microestructura más abierta y tridimensional, reflejo del progreso inicial del fraguado (Figura 27c). Finalmente, a 7000X, se aprecia un ensamble denso e irregular conformado por microfragmentos, placas anguladas y partículas finas agrupadas en forma de conglomerados. No se observan cristales aciculares como por ejemplo en forma de hoja de pino tan característicos como en otros cementos (por ejemplo, Biodentine). La superficie mantiene una apariencia compacta, rugosa de tipo granular (Figura 27d).

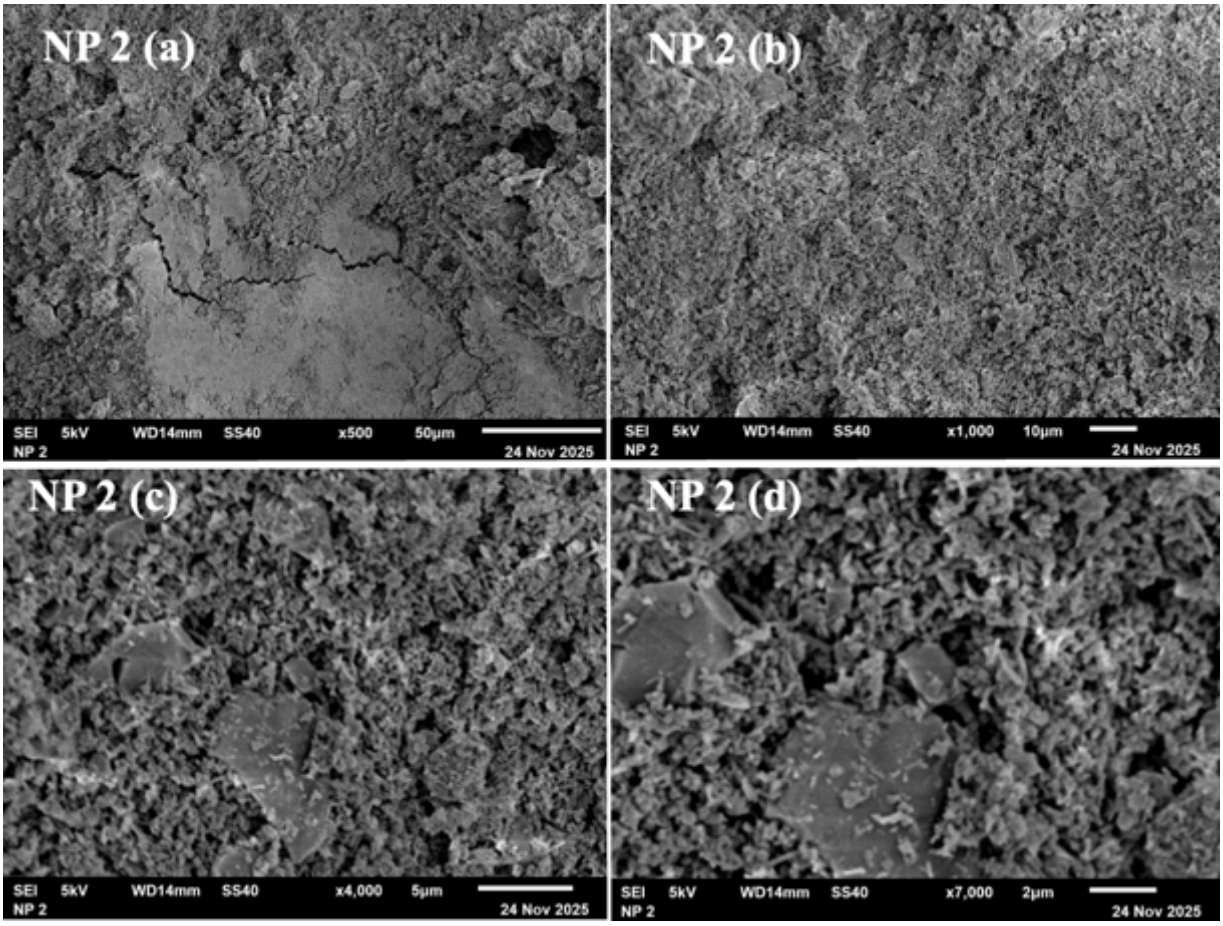


Figura 27. Micrografías de discos de preparacion inmediata de Neo PUTTY; (a) aumento a 500 X, (b) aumento a 1000 X, (c) aumento a 4000 X, (d) aumento a 7000X.

15 DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la adhesión de *Enterococcus faecalis* a cuatro cementos de reparación endodóntica: ionómero de vidrio, Biodentine, Dia-Root y NeoPutty. Los resultados demostraron diferencias significativas en la colonización bacteriana, confirmando que las propiedades químicas y superficiales de cada material influyen directamente en la formación de biopelícula. El ionómero de vidrio mostró la menor adhesión bacteriana, mientras que Biodentine presentó la mayor proliferación de *E. faecalis*. NeoPutty y Dia-Root no mostraron diferencias estadísticas entre sí, aunque el análisis morfológico mediante MEB reveló que Dia-Root fue el biocerámico con menor colonización superficial.

Estos hallazgos coinciden con estudios recientes que reportan que los biocerámicos a base de silicato de calcio presentan variaciones en su capacidad antibacteriana dependiendo de su composición, liberación iónica, pH inicial y microtopografía (81).

Diversos trabajos sostienen que no todas las formulaciones a base de silicato de calcio se comportan de la misma forma frente a *E. faecalis* ni frente a biopelículas organizadas (72). demostrandon que distintos biocerámicos (MTA, Biodentine, BioRoot RCS, TotalFill BC) presentan variaciones importantes en la capacidad de reducir biopelículas duales y multispecie mediante recuperación de bacterias viables y microscopía con focal. De forma semejante, diversos estudios sobre selladores biocerámicos han mostrado diferencias significativas en la actividad antibacteriana y antibiofilm entre marcas (83).

Estudios de 2020 a 2024 han demostrado que entre 21 y 28 días los biocerámicos empleados en las restauraciones alcanzan su hidratación completa, estabilización del pH y formación de hidroxiapatita, condiciones que representan escenarios más reales del comportamiento clínico a largo plazo (84).

Biodentine, en particular, tiende a desarrollar una microestructura con mayor rugosidad y cristales de aspecto puntiagudo , lo que facilita el anclaje bacteriano una vez

disminuye su alcalinidad inicial, coincidiendo con un estudio del 2022 donde evaluaron características de la superficie y adhesión bacteriana a través de muestras envejecidas, expuestas directamente a 1, 7 y 28 días donde se reportó que ninguno de los materiales logro inhibir la adherencia bacteriana a los 28 días,(85) .En contraste, materiales como Dia-Root presentan estructuras laminares más compactas, que reducen los puntos de adhesión bacteriana. (86)

En conjunto, los resultados de UFC y MEB obtenidos en este estudio confirman que la adhesión de *E. faecalis* depende tanto del estado de maduración del cemento como de su microestructura superficial, lo que refuerza la importancia de seleccionar materiales con propiedades favorables frente al biofilm en casos de perforación radicular.

16 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio *in vitro,* permiten concluir que la adhesión de *Enterococcus faecalis* a los diferentes cementos de reparación radicular evaluados presenta variaciones importantes las cuales consideramos son atribuibles a las características fisicoquímicas y topográficas de cada material. La cuantificación de las UFC, así como las observaciones morfológicas con MEB, demostraron que si existe una interacción diferencial entre el microorganismo y las superficies de los cementos analizados.

En relación con el objetivo general, se confirmó que *E. faecalis* es capaz de adherirse a todos los materiales evaluados; sin embargo, el grado de adhesión no es el mismo entre los grupos. Además, DIA-ROOT presentó una superficie menos susceptible a la adhesión bacteriana, contrario a Biodentine que mostró el comportamiento opuesto. Aunque las diferencias cuantitativas no fueron significativas entre los grupos experimentales, las observaciones cualitativas respaldan que la topografía superficial influye en la colonización por *E. faecalis*.

Finalmente, los resultados de este estudio aportan evidencia relevante sobre el comportamiento de *E. faecalis* frente a distintos cementos de reparación radicular, lo cual puede orientar la selección clínica de materiales considerando no solo sus propiedades físico-mecánicas o biológicas, sino también su respuesta frente a la adhesión microbiana, el cual es un factor clave en la prevención de infecciones persistentes y por lo tanto en el pronóstico del tratamiento endodóntico.

17 PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos pueden abrir diversas líneas de investigación que pueden profundizar en la relación entre los cementos biocerámicos y la adhesión de microorganismos:

- Determinar la adhesión de *E.faecalis* en periodos prolongados, considerando la maduración del biofilm y la estabilidad química de los materiales en condiciones más similares al ambiente clínico.
- Incluir modelos multimicrobianos
- Evaluar la rugosidad superficial, las microfisuras, la liberación iónica y pH de cada material con su capacidad para inhibir la adhesión bacteriana.

18 REFERENCIAS

1. Armenta-Molina J, Olivares-Acosta I, Candolfi-Arballo O. Inhibición in vitro del crecimiento de enterococcus faecalis empleando cementos para endodoncia. REVMEDUAS. el 31 de diciembre de 2022;12(4):299–308.
2. Soares IJ, Goldberg Fernando, Frydman Jorge. Endodoncia : técnicas y fundamentos. 2002;325.
3. Kenneth E, Hargreaves M, Berman LH. Cohen. Vías de la Pulpa UNDÉCIMA EDICIÓN.
4. de Castro Kruly P, Alenezi HEHM, Manogue M, Devine DA, Dame-Teixeira N, Garcia FCP, et al. Residual Bacteriome after Chemomechanical Preparation of Root Canals in Primary and Secondary Infections. J Endod. el 1 de julio de 2022;48(7):855–63.
5. Pérez AR, Vieira GCS, Ortolani-Seltenerich S. Persistencia Bacteriana Post-tratamiento Endodóntico: Implicaciones Clínicas y Estrategias Terapéuticas Bacterial Persistence Post-Endodontic Treatment: Clinical Implications and Therapeutic Strategies. 2021.
6. Cohn Roberto; Reyes Gimena. Irrigación: limpieza y desinfección del sistema de conductos. Universidad Nacional de Cuyo Facultad de Odontología. noviembre de 2023;
7. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics—Current status and future directions. Vol. 18, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2017.
8. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics—Current status and future directions. Vol. 18, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2017.
9. Torres KC, Antonio Sánchez-Tito M. Efecto Antimicrobiano de Tres Cementos Selladores Endodónticos frente a Streptococcus mutans, Enterococcus faecalis y Candida albicans Antimicrobial Effect of Three Sealant Endodontic Cements for Streptococcus mutans, Enterococcus faecalis and Candida albicans. Vol. 15, Int. J. Odontostomat. 2021.
10. Nemer Molina NP, Centeno Dávila M de C, Artieda Sáenz JG, Claure Venegas D. Factores de resistencia microbiana de Enterococcus Faecalis asociado a fracasos endodónticos. Revista Científica ESPECIALIDADES ODONTOLÓGICAS UG. el 1 de julio de 2022;5(2):23–9.
11. Johnson AO, Shipman BM, Hunt BC, Learman BS, Brauer AL, Zhou SP, et al. Function and contribution of two putative Enterococcus faecalis glycosaminoglycan degrading enzymes to bacteremia and catheter-associated urinary tract infection. Infect Immun. el 1 de julio de 2024;92(7).
12. Torres KC, Antonio Sánchez-Tito M. Efecto Antimicrobiano de Tres Cementos Selladores Endodónticos frente a Streptococcus mutans, Enterococcus faecalis y Candida albicans Antimicrobial Effect of Three Sealant Endodontic Cements for Streptococcus mutans, Enterococcus faecalis and Candida albicans. Vol. 15, Int. J. Odontostomat. 2021.
13. Janet I, Rivas C, Rojas LV. Comparación de la microfiltración apical de cuatro tipos de cementos endodónticos: Endofill, mta Fillapex, Adseal y Roeko Seal Comparison of the Apical Microleakage of Four Types Of Endodontic Cements: Endofill, mta Fillapex, Adseal and Roeko Seal Comparação da microinfiltração apical de quatro tipos de cimentos endodônticos: Endofill, mta Fillapex, Adseal e Roeko seal [Internet]. Vol. 22,

Rev. Cienc. Salud. Bogotá, Colombia. Disponible en: https://orcid.org/0000-0003-1219-7456
14. Soria Sánchez FG, Espinosa Vásquez X. Sellado de perforaciones radiculares con un cemento sellador biocerámico: Reporte de un caso clínico. Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cuenca. el 28 de junio de 2024;2(1).
15. Komabayashi T, Colmenar D, Cvach N, Bhat A, Primus C, Imai Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. Vol. 39, Dental Materials Journal. Japanese Society for Dental Materials and Devices; 2020. p. 703–20.
16. Espinoza F, Lizana A, Muñoz P. Biocerámicos en odontología, una revisión de literatura Bioceramics in odontology, a literature review. Vol. 41, Canal Abierto. 2020.
17. De Revisión A, De R, Perirradiculares T, El EN, Castillo Páez JA, Álvarez M. REPAIR OF PERIRRADICULAR TISSUES IN NON-SURGICAL ENDODONTIC TREATMENT. A REVIEW. Rev Cient Odontol (Lima). 2024;12(3):210.
18. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. Cureus. el 13 de marzo de 2020;
19. Corrales Payares C, Osorio Cabarcas GI, Lozano Deluquez MF, Zarate Toncel P, Ramos Garrido R, Orozco Páez J. Efectividad del sistema rotatorio Mtwo® e hipoclorito de sodio en la eliminación del Enterococcus faecalis. Revisión de la literatura. Ustasalud. el 17 de diciembre de 2020;20.
20. Vaca Ayala CE, Guamán Hernández VA, Cabezas Abad CA, León Velastegui MA. Microfiltración corono apical de Enterococcus faecalis en dientes endodonciados. Anatomía Digital. el 25 de mayo de 2024;7(2):147–62.
21. Vehkalahti MM, Swanljung O. Accidental perforations during root canal treatment: an 8-year nationwide perspective on healthcare malpractice claims. Clin Oral Investig. el 1 de octubre de 2020;24(10):3683–90.
22. Estrela C, Decurcio D de A, Rossi-Fedele G, Silva JA, Guedes OA, Borges ÁH. Root perforations: A review of diagnosis, prognosis and materials. Vol. 32, Brazilian Oral Research. Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia; 2018. p. 133–46.
23. Espinosa Alfonso; Elias Diana. Sellado de Perforación de la Furca en Molar Inferior, Presentación de un Caso con Control a 63 meses. Sealing of Perforation of the Furca in Lower Molar, Presentation of a Case with Control at 63 Months. 2021.
24. Vehkalahti MM, Swanljung O. Accidental perforations during root canal treatment: an 8-year nationwide perspective on healthcare malpractice claims. Clin Oral Investig. el 1 de octubre de 2020;24(10):3683–90.
25. Mohammed Saed S, Ashley MP. Root perforations: Aetiology, management strategies and outcomes. The hole truth. Vol. 220, British Dental Journal. Nature Publishing Group; 2016. p. 171–80.
26. Al-Nazhan S, El Mansy I, Al-Nazhan N, Al-Rowais N, Al-Awad G. Outcomes of furcal perforation management using Mineral Trioxide Aggregate and Biodentine: a systematic review. Vol. 30, Journal of Applied Oral Science. Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de Sao Paulo; 2022.
27. Morocho-Monteros D, Masson-Palacios MJ, Parise-Vasco JM. Management of Maxillary Incisors With Middle-Third Root Perforation: A Case Report. Nuvvula S, editor. Case Rep Dent [Internet]. el 22 de enero de 2024;2024(1). Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2024/5957016

28. Mohammed Saed S, Ashley MP. Root perforations: Aetiology, management strategies and outcomes. The hole truth. Vol. 220, British Dental Journal. Nature Publishing Group; 2016. p. 171–80.
29. Alshehri MM, Alhawsawi BF, Alghamdi A, Aldobaikhi SO, Alanazi MH, Alahmad FA. The Management of Root Perforation: A Review of the Literature. Cureus [Internet]. el 24 de octubre de 2024; Disponible en: https://www.cureus.com/articles/297461-the-management-of-root-perforation-a-review-of-the-literature
30. Borges AH, Oliveira D, Mamede-Neto I, Estrela CAR, Estrela C. Surgical management of root canal perforation aided by CBCT scan. Journal of Clinical and Diagnostic Research. el 1 de diciembre de 2018;12(12):24–6.
31. Uraba S, Ebihara A, Komatsu K, Ohbayashi N, Okiji T. Ability of Cone-beam Computed Tomography to Detect Periapical Lesions That Were Not Detected by Periapical Radiography: A Retrospective Assessment According to Tooth Group. J Endod. el 1 de agosto de 2016;42(8):1186–90.
32. Abada H, gemaie D El, Shreif M El, Hatata N. Accuracy of Cone-Beam Computed Tomography in Detection of Root Perforations Using Different Voxel Sizes in Comparison to Digital Periapical Radiograph, An in vitro study [Internet]. 2023. Disponible en: https://www.researchsquare.com/article/rs-3318405/v1
33. Shemesh H, Cristescu RC, Wesselink PR, Wu MK. The use of cone-beam computed tomography and digital periapical radiographs to diagnose root perforations. J Endod. abril de 2011;37(4):513–6.
34. Alshamrani AS, Almusharraf AY, Alshammari KA, Ali EJB, Almutairi HH, Farrash FA, et al. Causes, diagnosis, treatment and prognosis of root perforations. Int J Community Med Public Health. el 29 de diciembre de 2022;10(1):351.
35. Diana D, Edlyn C, Andreina C, Juan J. Manejo quirúrgico de perforación radicular con cemento hidráulico Bio C Repair en un incisivo central superior, con absceso apical crónico. Reporte de caso / Surgical management of root perforation with Bio C Repair hidraulic cement, in an upper left central incisor, with chronical apical abscess. Case report. 169 ODOUS CIENTÍFICA. 2023;24(2):169–78.
36. Soria Sánchez FG, Espinosa Vásquez X. Sellado de perforaciones radiculares con un cemento sellador biocerámico: Reporte de un caso clínico. Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cuenca. el 28 de junio de 2024;2(1).
37. Soria Sánchez FG, Espinosa Vásquez X. Sellado de perforaciones radiculares con un cemento sellador biocerámico: Reporte de un caso clínico. Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cuenca. el 28 de junio de 2024;2(1).
38. Panchal S, Chandak M, Bhopatkar J, Agrawal P, Gupta A, Pankey N. Repair of Iatrogenic Furcal Perforation With Mineral Trioxide Aggregate: A Case Report. Cureus. el 10 de junio de 2024;
39. Vicente Ariel Eduardo Director O, Anselmi Alberto M. Causas, tratamiento y pronóstico de las perforaciones en Endodoncia.
40. Wang X, Xiao Y, Song W, Ye L, Yang C, Xing Y, et al. Clinical application of calcium silicate-based bioceramics in endodontics. Vol. 21, Journal of Translational Medicine. BioMed Central Ltd; 2023.
41. Al-Ahmad A, Haendel M, Altenburger MJ, Karygianni L, Hellwig E, Wrbas KT, et al. Biodentine Inhibits the Initial Microbial Adhesion of Oral Microbiota In Vivo. Antibiotics. el 1 de enero de 2023;12(1).

42. Surya Raghavendra S, Jadhav GR, Gathani KM, Kotadia P. BIOCERAMICS IN ENDODONTICS – A REVIEW. J Istanb Univ Fac Dent. el 17 de noviembre de 2017;51(0).
43. Dong X, Xu X. Bioceramics in Endodontics: Updates and Future Perspectives. Vol. 10, Bioengineering. MDPI; 2023.
44. Abusrewil SM, McLean W, Scott JA. The use of Bioceramics as root-end filling materials in periradicular surgery: A literature review. Vol. 30, Saudi Dental Journal. Elsevier B.V.; 2018. p. 273–82.
45. Freire Y, Mancebo FY, Pérez LM, Martínez EI, White PB, Cabello C, et al. Artículo original Correspondencia: Cementos de silicato de calcio: evaluación de la toxicidad y de la respuesta inflamatoria. Vol. 18, Cient. Dent. 2021.
46. Alberdi JC, Martín G. SELLADORES BIOCERÁMICOS Y TÉCNICAS DE OBTURACIÓN EN ENDODONCIA. Rev Fac Odontol Univ Nac (Cordoba). el 11 de junio de 2021;14(1):17.
47. Ruiz-Linares M, Fedoseev V, Solana C, Muñoz-Sandoval C, Ferrer-Luque CM. Antibiofilm Efficacy of Calcium Silicate-Based Endodontic Sealers. Materials. el 1 de agosto de 2024;17(16).
48. Garrido M, Morales D, Saldías MP, Fernández C, Villalobos V, Cerda O, et al. Cellular response of human apical papilla cells to calcium hydroxide and tricalcium silicate-based cements. BMC Oral Health. el 1 de diciembre de 2021;21(1).
49. Song W, Li S, Tang Q, Chen L, Yuan Z. In vitro biocompatibility and bioactivity of calcium silicate-based bioceramics in endodontics (Review). Int J Mol Med. el 1 de julio de 2021;48(1).
50. Llull -Lilian, Kiang T, Director A, Michael Ryan -S EJ. Sincerely yours, for [Internet]. Disponible en: http://www.fda.gov/MedicalDevices/ResourcesforYou/Industry/default.htm.
51. Mohamed DAA, Abdelwahab SAF, Mahmoud RH, Taha RM. Radiographic and immuno-histochemical evaluation of root perforation repair using MTA with or without platelet-rich fibrin or concentrated growth factors as an internal matrix in dog's teeth: in vivo animal study. Clin Oral Investig. el 1 de septiembre de 2023;27(9):5103–19.
52. Rajasekharan S, Martens LC, Cauwels RGEC, Anthonappa RP. Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a 3 year literature review and update. Vol. 19, European Archives of Paediatric Dentistry. Springer Verlag; 2018.
53. Malkondu Ö, Kazandağ MK, Kazazoğlu E. A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. Vol. 2014, BioMed Research International. Hindawi Publishing Corporation; 2014.
54. Abusrewil SM, McLean W, Scott JA. The use of Bioceramics as root-end filling materials in periradicular surgery: A literature review. Vol. 30, Saudi Dental Journal. Elsevier B.V.; 2018. p. 273–82.
55. Cruz Hondares T, Hao X, Zhao Y, Lin Y, Napierala D, Jackson JG, et al. Antibacterial, biocompatible, and mineralization-inducing properties of calcium silicate-based cements. Int J Paediatr Dent. el 1 de noviembre de 2024;
56. Duarte MAH, Marciano MA, Vivan RR, Tanomaru Filho M, Tanomaru JMG, Camilleri J. Tricalcium silicate-based cements: Properties and modifications. Braz Oral Res. 2018;32:111–8.
57. Camilleri J, Ch BD, Phil M. Scientific inSightS BioRoot ™ RCS Un changement de paradigme est-il possible pour l'obturation du canal radiculaire ?

58. Siboni F, Taddei P, Zamparini F, Prati C, Gandolfi MG. Properties of bioroot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. Int Endod J. el 1 de enero de 2017;50(Special Issue 2):e120–36.
59. Chepetla T. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA [Internet]. Disponible en: https://www.rodyb.com/bioceramicos-y-selladores-radiculares/
60. Surya Raghavendra S, Jadhav GR, Gathani KM, Kotadia P. BIOCERAMICS IN ENDODONTICS – A REVIEW. J Istanb Univ Fac Dent. el 17 de noviembre de 2017;51(0).
61. Zamparini F, Prati C, Taddei P, Spinelli A, Di Foggia M, Gandolfi MG. Chemical-Physical Properties and Bioactivity of New Premixed Calcium Silicate-Bioceramic Root Canal Sealers. Int J Mol Sci. el 1 de noviembre de 2022;23(22).
62. Hamdy TM, Galal MM, Ismail AG, Saber S. Physicochemical properties of AH plus bioceramic sealer, Bio-C Sealer, and ADseal root canal sealer. Head Face Med. el 1 de diciembre de 2024;20(1).
63. Siqueira JF, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. Vol. 55, International Endodontic Journal. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 512–30.
64. Sarao SK, Berlin-Broner Y, Levin L. Occurrence and Risk Factors of Dental Root Perforations: A Systematic Review. Vol. 71, International Dental Journal. Elsevier B.V.; 2021. p. 96–105.
65. Zhang C, Du J, Peng Z. Correlation between Enterococcus faecalis and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic Review. Vol. 41, Journal of Endodontics. Elsevier Inc.; 2015. p. 1207–13.
66. Singh H, Das S, Yadav J, Srivastava VK, Jyoti A, Kaushik S. In search of novel protein drug targets for treatment of Enterococcus faecalis infections. Vol. 94, Chemical Biology and Drug Design. Blackwell Publishing Ltd; 2019. p. 1721–39.
67. Bolhari B, Bahador A, Khoshkhounejad M, Sobhi Afshar M, Moghaddaszadeh M, Khoshkhounejad M. Evaluation of the Effect of MTAD on Expression of Enterococcus faecalis Virulence Factors Considering the Role of Different Obturating Materials [Internet]. Vol. 15, Journal of Dentistry. 2018. Disponible en: www.jdt.tums.ac.ir
68. Francisco PA, Fagundes PI da G, Lemes-Junior JC, Lima AR, Passini MRZ, Gomes BPFA. Pathogenic potential of Enterococcus faecalis strains isolated from root canals after unsuccessful endodontic treatment. Clin Oral Investig. el 1 de septiembre de 2021;25(9):5171–9.
69. Engel AS, Kranz HT, Schneider M, Tietze JP, Piwowarcyk A, Kuzius T, et al. Biofilm formation on different dental restorative materials in the oral cavity. BMC Oral Health. el 3 de junio de 2020;20(1).
70. Yang S, Meng X, Zhen Y, Baima Q, Wang Y, Jiang X, et al. Strategies and mechanisms targeting Enterococcus faecalis biofilms associated with endodontic infections: a comprehensive review. Vol. 14, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. Frontiers Media SA; 2024.
71. Bose R, Ioannidis K, Foschi F, Bakhsh A, Kelly RD, Deb S, et al. Antimicrobial effectiveness of calcium silicate sealers against a nutrient-stressed multispecies biofilm. J Clin Med. el 1 de septiembre de 2020;9(9):1–15.
72. Jerez-Olate C, Araya N, Alcántara R, Luengo L, Bello-Toledo H, González-Rocha G, et al. In vitro antibacterial activity of endodontic bioceramic materials against dual and

multispecies aerobic-anaerobic biofilm models. Australian Endodontic Journal. el 1 de diciembre de 2022;48(3):465–72.
73. Alsubait S, Albader S, Alajlan N, Alkhunaini N, Niazy A, Almahdy A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against Enterococcus faecalis biofilms: a confocal laser-scanning microscopy analysis. Odontology. el 1 de octubre de 2019;107(4):513–20.
74. Hage W, Sarkis DK, Kallasy M, Sfeir G, Mallah M, El Hachem R, et al. Antimicrobial Activity of Five Calcium Silicate Based Root Canal Sealers against a Multispecies Engineered Biofilm: An In Vitro Study. Journal of Contemporary Dental Practice. el 1 de septiembre de 2023;24(9):707–14.
75. Munitić MŠ, Budimir A, Jakovljević S, Anić I, Bago I. Short-term antibacterial efficacy of three bioceramic root canal sealers against Enterococcus faecalis biofilms. Acta Stomatol Croat. el 1 de marzo de 2020;54(1):3–9.
76. Sterzenbach T, Helbig R, Hannig C, Hannig M. Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. Vol. 24, Clinical Oral Investigations. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2020. p. 4237–60.
77. Bello-Márquez O, de Correspondencia A, Bello-Márquez Dirección O, de Celaya B. In Vitro comparison of the antibacterial efficacy of two intracanal medications calcium hydroxide and chitosan Comparación In Vitro de la eficacia antibacteriana de dos medicaciones intraconducto hidróxido de calcio y quitosano. Vol. 78, Rev. Sanid. Milit. 2024.
78. Tahis Romero-González A. Biofilm y resistencia antimicrobiana Biofilm and antimicrobial resistance. Disponible en: http://revistaamc.sld.cu/
79. Wilson C, Lukowicz R, Merchant S, Valquier-Flynn H, Caballero J, Sandoval J, et al. Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review HHS Public Access. Vol. 6, Res Rev J Eng Technol. 2017.
80. Mexicana NO. Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.
81. Al-Ahmad A, Haendel M, Altenburger MJ, Karygianni L, Hellwig E, Wrbas KT, et al. Biodentine Inhibits the Initial Microbial Adhesion of Oral Microbiota In Vivo. Antibiotics. el 1 de enero de 2023;12(1).
82. Subhi H, Subhi N, Alhaidary S, Azeez MS, Tabnjh AK. Antibacterial activity of biodentine against Enterococcus faecalis: a systematic review. Vol. 5, Frontiers in Dental Medicine. Frontiers Media SA; 2024.
83. Moon SH, Shin SJ, Oh S, Bae JM. Antibacterial Activity and Sustained Effectiveness of Calcium Silicate-Based Cement as a Root-End Filling Material against Enterococcus faecalis. Materials. el 1 de septiembre de 2023;16(18).
84. Guimarães BM, Prati C, Duarte MAH, Bramante CM, Gandolfi MG. Physicochemical properties of calcium silicate-based formulations MTA repair HP and MTA vitalcem. Journal of Applied Oral Science. 2018;26.
85. Koutroulis A, Valen H, Ørstavik D, Kapralos V, Camilleri J, Sunde PT. Surface characteristics and bacterial adhesion of endodontic cements. Clin Oral Investig. el 1 de diciembre de 2022;26(12):6995–7009.

86. Koutroulis A, Valen H, Ørstavik D, Kapralos V, Camilleri J, Sunde PT. Surface characteristics and bacterial adhesion of endodontic cements. Clin Oral Investig. el 1 de diciembre de 2022;26(12):6995–7009.