

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**“ESTUDIO IN VITRO SOBRE LA ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA, Y LA CITOTOXICIDAD EN CELULAS DE
LIGAMENTO PERIODONTAL, DE LOS CEMENTOS BIOCERAMICOS
ENDOSEQUENCE SEALER, CERASEAL Y BIO-C-SEALER.”**

POR

C.D. BERNARDO HERNÁNDEZ SANDOVAL

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
EN EL ÁREA DE ENDODONCIA**

OCTUBRE 2023

TESIS

**“ESTUDIO IN VITRO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA, Y LA
CITOTOXICIDAD EN CELULAS DE LIGAMENTO PERIODONTAL, DE LOS
CEMENTOS BIOCERAMICOS ENDOSEQUENCE SEALER, CERASEAL Y BIO-
C-SEALER”.**

POR

C.D. BERNARDO HERNÁNDEZ SANDOVAL

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL AREA DE ENDODONCIA**

Comité de Tesis

Presidente

Secretario

Vocal

TESIS

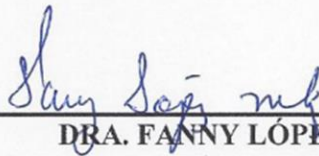
“ESTUDIO IN VITRO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA, Y LA
CITOTOXICIDAD EN CELULAS DE LIGAMENTO PERIODONTAL, DE LOS
CEMENTOS BIOCERAMICOS ENDOSEQUENCE SEALER, CERASEAL Y BIO-
C-SEALER”.

POR

C.D BERNARDO HERNÁNDEZ SANDOVAL

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL AREA DE ENDODONCIA

Comité de Tesis



DRA. FANNY LÓPEZ MARTÍNEZ
DIRECTOR DE TESIS



DRA. MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS
CODIRECTOR DE TESIS



DRA. MAYRA GUADALUPE MARTÍNEZ GARCÍA
ASESOR METODOLÓGICO

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Dra. Fanny López Martínez, Dra. Myriam Angelica De La Garza Ramos, por asesorarme con sus conocimientos para lograr mi tesis. Así como del Dr. Jorge Jaime Flores Treviño coordinador del posgrado de endodoncia por su valioso apoyo en todo momento para mi proyecto de tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para la realización de mis estudios.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) y al Posgrado de Endodoncia por permitirme usar su equipo y la invaluable ayuda para el desarrollo de este estudio.

A mi familia, amigos, compañeros del posgrado que se convirtieron en mis hermanos por su apoyo moral que me han brindado en todo momento y a todas las personas que siguen brindándome su apoyo para la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

Principalmente a mi madre que siempre ha creído en todos mis proyectos de vida y su apoyo moral para poderlo llevar a cabo, a mi padre que me brinda su apoyo desde los inicios de mis estudios para poder realizarlos y siempre enseñarme a hacer lo que más me guste.

A mis hermanos por aguantar y ayudarme a salir adelante en mis estudios, siempre estar presentes en los momentos difíciles del camino.

A mis amigos que a pesar de las adversidades siguen presentes hoy.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	4
LISTA DE FIGURAS	8
NOMENCLATURA.....	9
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. HIPÓTESIS	13
3. OBJETIVOS.....	14
3.1 Objetivo General.....	14
3.2 Objetivos Específicos.....	14
4. ANTECEDENTES	15
4.1 Tratamiento Endodóntico.....	15
4.2 Enterococcus Faecalis	16
4.3 Materiales de obturación	16
4.4 Cementos selladores biocerámicos	17
4.5 Endosequence Bc sealer.....	17
4.6 Ceraseal.....	18
4.7 Bio-C-sealer.....	19
4.8 Metodología para evaluar actividad Antimicrobiana.....	19
4.8.1 Prueba de Difusión en Agar(ADT).....	19
4.8.2 Prueba de Contacto Directo(DCT).....	20
4.9 Metodología para estudiar la biocompatibilidad de los cementos.....	20
4.9.1 Ensayo de viabilidad celular(MTT).....	20
5.MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
5.1 Materiales probados... ..	23
5.2 Microorganismo de prueba	23
5.3 Prueba de contacto directo-(DCT)	23
5.4 Prueba de difusión de agar(ADT).....	23
5.5 Prueba de viabilidad celular(MTT).....	24
5.6 Análisis estadístico.....	24

6. RESULTADOS	25
6.1 Actividad antimicrobiana en prueba de contacto directo(DCT)	25
6.2 Medición de halos de inhibición en placas de agar(ADT)	27
6.3 Citotoxicidad de cementos selladores endodónticos(MTT).....	29
7. DISCUSIÓN.....	31
8. CONCLUSIÓN.....	34
9. BIBLIOGRAFÍA	35

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Figura	Página
1. Figura 1: Placa de 96 pocillos prueba de DCT.....	25
2. Gráfico 1: Gráfico de prueba de normalidad DCT 1 min.....	25
3. Gráfico 2: Gráfico de prueba de normalidad DCT 5 min.....	26
4. Tabla 1: Prueba de ANOVA DCT.....	26
5. Gráfico 3: Comparación de absorbancia DCT.....	26
6. Figura 2: Sensidiscos de prueba de difusión en Agar(ADT).....	27
7. Gráfico 4: Gráfico de barras ADT.....	27
8. Tabla 2: Prueba de Normalidad ADT.....	28
9. Figura 3: Placa de 96 pocillos prueba MTT.....	29
10. Gráfico 5: Gráfico de lectura de crecimiento celular.....	29
11. Tabla 3: Prueba de normalidad de crecimiento celular.....	30
12- Gráfico 6: Gráfico de valores de normalidad MTT.....	30

NOMENCLATURA

DCT	Prueba de contacto directo.
ADT	Prueba de difusión en agar.
TX	Tratamiento.
E	Endodoncia.
MOOS	Microorganismos.
ZOE	Óxido de Zinc y Eugenol.

TESISTA: C.D. BERNARDO HERNÁNDEZ SANDOVAL
DIRECTOR DE TESIS: DRA. FANNY LÓPEZ MARTINEZ
CO-DIRECTOR DE TESIS: DRA. MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN.

**“ESTUDIO IN VITRO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA, Y LA
CITOTOXICIDAD EN CELULAS DE LIGAMENTO PERIODONTAL, DE LOS
CEMENTOS BIOCERAMICOS ENDOSEQUENCE SEALER, CERASEAL Y BIO-
C-SEALER”**

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Uno de los principales objetivos en la obturación y en la elección de un material sellador de conductos radiculares es el llenado correcto de los espacios, los conductos accesorios en los conductos radiculares y los múltiples forámenes que pueden presentarse según la anatomía de cada diente. **OBJETIVO:** Estudiar los cementos biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer para poder analizar e identificar su actividad antimicrobiana y citotoxicidad que estos tienen sobre células de ligamento periodontal. **METODOLOGÍA:** Se realizaron pruebas con 3 cementos biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer, se expusieron directamente con *Enterococcus faecalis* en una incubadora por 24 horas, se leyeron resultados con espectrofotometría y en prueba de agar para la medición de los halos de inhibición, se cultivaron células de ligamento periodontal y se exponen directamente a los cementos selladores por 24 horas y obtuvimos lectura con el espectrofotómetro. **RESULTADOS:** Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer se comportaron con el mismo efecto antimicrobiano y obtuvieron un potencial crecimiento celular demostrando Endosequence 8 veces más crecimiento celular seguido de Bio-C-sealer 6.3 veces y Ceraseal con 3.5 veces mayor que los grupos controles que tuvieron un decremento en el crecimiento de células en el conteo. **CONCLUSIONES:** De acuerdo con lo obtenido en este estudio in vitro podemos concluir que los cementos selladores biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer presentan propiedades antimicrobianas deseables y un potencial crecimiento celular.

PALABRAS CLAVE: Cementos selladores, Antimicrobiano, Biocompatibilidad, Biocerámicos.

TESISTA: C.D. BERNARDO HERNÁNDEZ SANDOVAL

DIRECTOR DE TESIS: DRA. FANNY LÓPEZ MARTINEZ

CO-DIRECTOR DE TESIS: DRA. MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN.

“ESTUDIO IN VITRO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA, Y LA CITOTOXICIDAD EN CELULAS DE LIGAMENTO PERIODONTAL, DE LOS CEMENTOS BIOCERAMICOS ENDOSEQUENCE SEALER, CERASEAL Y BIO-C-SEALER”

ABSTRACT

INTRODUCTION: One of the main objectives in obturation and in the choice of a root canal sealing material is the correct filling of the spaces, the accessory canals in the root canals and the multiple foramina that can occur depending on the anatomy of each tooth. **OBJECTIVE:** To study the Endosequence Sealer, Ceraseal and Bio-C-sealer bioceramic cements in order to analyze and identify their antimicrobial activity and cytotoxicity on periodontal ligament cells. **METHODOLOGY:** Tests were performed with 3 bioceramic cements Endosequence Sealer, Ceraseal and Bio-C-sealer, they were directly exposed with *Enterococcus faecalis* in an incubator for 24 hours, results were read with spectrophotometry and in agar test for the measurement of inhibition halos, periodontal ligament cells were cultured and directly exposed to the sealer cements for 24 hours and we obtained reading with the spectrophotometer. **RESULTS:** Endosequence Sealer, Ceraseal and Bio-C-sealer behaved with the same antimicrobial effect and obtained potential cell growth, Endosequence demonstrating 8 times more cell growth followed by Bio-C-sealer 6.3 times and Ceraseal 3.5 times higher than the groups. controls that had a decrease in cell growth in the count. **CONCLUSIONS:** Based on what was obtained in this in vitro study, we can conclude that the bioceramic sealing cements Endosequence Sealer, Ceraseal and Bio-C-sealer have desirable antimicrobial properties and potential cell growth.

KEY WORDS: Sealing cements, Antimicrobial, Biocompatibility, Bioceramics.

1. INTRODUCCIÓN.

Uno de los principales objetivos en la obturación y en la elección de un material sellador de conductos radiculares es el llenado correcto de los espacios, los conductos accesorios en los conductos radiculares y los múltiples forámenes que pueden presentarse según la anatomía de cada diente. La fase de obturación del conducto radicular forma parte de una importancia en el éxito del tratamiento endodóntico, debido a esto debemos tener en cuenta los diferentes materiales de selladores que están disponibles que sus principales componentes químicos pueden variar, algunos a base de óxido de zinc y eugenol, hidróxido de calcio, ionómero de vidrio, silicona, resina y selladores a base de biocerámicos. Debido al aumento en la importancia y al uso de nueva tecnología biocerámica se han diseñado selladores que incluyen alúmina, zirconia, vidrio bioactivo, hidroxiapatita y fosfatos de calcio. Actualmente muchos dentistas aún no lo utilizan por falta de información científica de sus propiedades en los cementos biocerámicos, así como de los buenos resultados que ofrecen sobre tejidos periapicales.

-¿Demuestran los cementos biocerámicos una buena actividad antimicrobiana y baja citotoxicidad sobre células de ligamento periodontal?

A pesar de las ventajas que nos ofrecen los materiales biocerámicos y su fácil difusión en el ámbito odontológico, su uso no ha sido investigado completamente, así como de los resultados positivos que tiene el uso de ellos por lo cual actualmente aún no se utilizan por falta de información científica de sus propiedades, así como de los buenos resultados que ofrecen. Estudiar los cementos biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer para poder analizar e identificar su actividad antimicrobiana y citotoxicidad que estos tienen sobre células de ligamento periodontal mediante pruebas en donde los 3 cementos selladores biocerámicos fueron expuestos al microorganismo de prueba *Enterococcus faecalis* y sus condiciones de crecimiento, se realizó la prueba de contacto directo de los 5 grupos donde medimos el crecimiento bacteriano, prueba de difusión en agar para la medición de halos de inhibición, ensayo de citotoxicidad o prueba MTT para valorar el crecimiento celular en su etapa exponencial y se pasaron resultados por un análisis estadístico. Se considera que las propiedades antimicrobianas, así como de la biocompatibilidad sobre los tejidos de los cementos selladores endodónticos es fundamental para el uso clínico de los mismos.

2.- HIPÓTESIS

“Los cementos biocerámicos Endosequence sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer, tienen buena respuesta en actividad antimicrobiana y baja citotoxicidad sobre células de ligamento periodontal”.

3. OBJETIVOS

3.- Objetivo General

-Analizar la actividad antimicrobiana y citotoxicidad en células de ligamento periodontal de los cementos biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer.

3.1.- Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antimicrobiana en un modelo de *Enterococcus faecalis* con el cemento biocerámico Endosequence sealer.
- Determinar la actividad antimicrobiana en un modelo de *Enterococcus faecalis* con el cemento biocerámico Ceraseal.
- Identificar la actividad antimicrobiana en un modelo de *Enterococcus faecalis* con el cemento biocerámico Bio-C-sealer.
- Investigar la citotoxicidad del cemento biocerámico Endosequence sealer sobre células del ligamento periodontal.
- Estudiar la citotoxicidad del cemento biocerámico Ceraseal sobre células de ligamento periodontal.
- Examinar la citotoxicidad del cemento biocerámico Bio-C-sealer sobre células de ligamento periodontal.

4. ANTECEDENTES.

4.1 Tratamiento endodóntico.

Existen varias medidas que se podemos utilizar en relación con la estimación del resultado de los tratamientos endodónticos. Es importante reflexionar sobre cuándo y por qué se utiliza una determinada medida de resultado; cuando se atiende a un paciente individual es obvio que el objetivo siempre debe ser un diente en un estado sano, es decir, esforzarse por eliminar cualquier infección y aspirar a que el diente tenga tejidos periapicales sanos (Fransson y Dawson, 2023). El objetivo principal de la terapia endodóntica moderna es lograr la retención a largo plazo de un diente funcional mediante la prevención o el tratamiento de la pulpitis o periodontitis apical es. La retención a largo plazo del diente tratado endodónticamente se correlaciona con la cantidad restante de tejido dental y la calidad de la restauración después de la obturación del conducto radicular. En los últimos años, se ha producido un rápido progreso y desarrollo en la investigación básica de la biología endodóntica, el instrumental y los materiales aplicados, haciendo que los procedimientos de tratamiento sean más seguros, precisos y eficaces (Jiang, 2016). El tratamiento de endodoncia exitoso en dientes infectados depende de la eliminación de la carga microbiana por la preparación quimiomecánica de los conductos radiculares. Sin embargo, la eliminación completa de microorganismos del sistema de conductos radiculares no es posible en todos los casos. Las infecciones endodónticas son polimicrobianas y más de 150 especies de bacterias y otras están presentes microorganismos que son responsables de la infección primaria o persistente (Mattigatti, et al. 2012).

Enterococcus faecalis es una especie comúnmente aislada que puede desempeñar un papel importante en las infecciones endodónticas persistentes. Los estudios informan una prevalencia de *E. faecalis* de hasta 77% en dientes con tratamiento endodóntico fallido (Hancock, 2001). El uso de materiales de obturación del conducto radicular con actividad antimicrobiana se considera ventajoso en el esfuerzo por reducir el número de microorganismos restantes, prevenir la recurrencia infección del conducto radicular y ayuda en la curación de los tejidos periapicales (Parirokh y Torabinejad, 2014).

4.2 *Enterococcus Faecalis*.

Los enterococos son miembros antiguos del microbioma animal que se cree que se remontan al menos al último ancestro común de mamíferos, reptiles, aves e insectos en el período Devónico temprano, hace 412 millones de años (Gilmore, et al., 2013). Estas bacterias prosperan en el medio ambiente rico en nutrientes y empobrecido en oxígeno del tracto intestinal, y al menos en parte debido a la diseminación de los animales hospedadores, se encuentran fácilmente en el medio ambiente (Lawley y Walker, 2013).

Enterococcus faecalis es la especie que se recupera con más frecuencia en el tratamiento fallido del conducto radicular, que es nueve veces mayor que en las infecciones endodónticas primarias (Siqueira y Sundqvist 2004). Las especies de *E. faecalis* clínicamente aisladas poseen muchas de las características del crecimiento de biopelículas, incluida una mayor adherencia capacidad, aumento de factores de virulencia y aumento de la resistencia a los antimicrobianos (Abdullah, et al., 2005). La estructura de la biopelícula puede explicar de alguna manera la frecuente discrepancia observada en estudios que prueban la efectividad antimicrobiana de irrigantes y medicamentos endodónticos clínicamente, y estudios in vitro que a menudo usan plancton culturas. El resultado del tratamiento del conducto radicular se ve influido por la presencia de bacterias en el mismo. Por lo tanto, es esencial conseguir una carga bacteriana lo suficientemente baja como para que sea compatible con la cicatrización del tejido perirradicular(Siqueira y Rôças, 2008). Durante el tratamiento, la mayoría de estos microorganismos se eliminan mediante la preparación quimiomecánica con instrumentos endodónticos e irrigantes, y la consiguiente carga bacteriana puede ser tan baja que se requieren métodos de detección muy sensibles para detectarla(Rôças, et al., 2013). También se informó de que la resistencia de *E. faecalis* se debía principalmente a su capacidad para sobrevivir en entornos hostiles y desarrollar resistencia a los antibióticos, así como a la capacidad de formar biopelículas (Alghamdi y Shakir, 2020).

4.3 Materiales de obturación.

Los requisitos de los materiales de obturación en endodoncia fueron descritos por (Grossman, 1988). Estos requisitos son ampliamente aceptados en la actualidad, deben ser: fácil de manipular, amplio tiempo de trabajo, estabilidad dimensional después de su colocación, capaz de sellar los conductos de manera lateral y apical conforme a la anatomía del conducto

radicular, no deben ser irritantes para los tejidos periapicales (compatibles con los tejidos), deben ser impermeables a la humedad y no ser porosos, no se deben ver afectados por los fluidos tisulares, así como poseer resistencia a la corrosión y oxidación, bacteriostático o bactericida con radiopacidad que lo haga fácil de discernir en una radiografía, no deben pigmentar o decolorar la estructura dental, deben estar estériles o ser fácil de esterilizar y si es necesario no debe ser complicado retirarlo, entre estas propiedades (Grossman, 1988).

La gutapercha ha sido utilizada para la obturación con un historial muy largo (Xu, 2007). Sin embargo, debido a la pobre adhesividad de la gutapercha, se ha utilizado en conjunto con selladores para lograr este objetivo (Salehrabi, 2004). Independientemente de la técnica utilizada, los selladores son responsables de las principales funciones en la obturación, incluido el sellado y la obturación de los espacios entre la pared del conducto y la gutapercha, así como las irregularidades en anatomías complejas y el bloqueo de los microorganismos restantes (Orstravik, 2005). Sería ventajoso si los materiales de obturación del conducto radicular tuvieran una sustantividad antimicrobiana para eliminar los microbios residuales que sobreviven al proceso inicial de desinfección del conducto radicular dentro de los túbulos dentinarios o como una biopelícula en superficies dentinarias intactas (Spangberg, 2002).

4.4 Cementos selladores biocerámicos.

Las biocerámicas son materiales que incluyen alúmina, zirconia, vidrio bioactivo, vitrocerámica, hidroxiapatita, fosfatos de calcio reabsorbibles, entre otros. Se han utilizado en odontología para rellenar defectos óseos, materiales de reparación de raíces, materiales de relleno apical, sellado de perforaciones, como selladores de endodoncia y como ayudas en la regeneración. Tienen ciertas ventajas como biocompatibilidad, no toxicidad, estabilidad dimensional y lo más importante en aplicaciones de endodoncia, siendo bioinertes. Tienen una similitud con la hidroxiapatita, una actividad osteoconductor intrínseca y tienen la capacidad de inducir respuestas regenerativas en el cuerpo humano. En endodoncia, pueden clasificarse ampliamente en fosfato de calcio / tricálcico / hidroxiapatita, silicato de calcio o mezclas de silicato de calcio y fosfatos (Shenoy y Shenoy, 2010).

El campo de la endodoncia cambia constantemente debido a la introducción de nuevas técnicas y avances tecnológicos. Los avances en las ciencias de los materiales de endodoncia

contribuyen de manera significativa al crecimiento exponencial de la endodoncia. La biocerámica se encuentra entre los materiales recientemente introducidos en endodoncia que han cambiado la cara de la endodoncia. Las cerámicas son materiales inorgánicos y no metálicos fabricados mediante el calentamiento de minerales crudos a altas temperaturas (Jain y Ranjan, 2015).

4.5 Endosequence BC sealer.

EndoSequence BC Sealer (Brasseler, Savannah, GA, EE. UU.) Es un sellador endodóntico biocerámico premezclado que se compone principalmente de óxido de circonio, silicatos de calcio, fosfato de calcio monobásico, hidróxido de calcio, relleno y agentes espesantes (Loushine, et al., 2011). El sellador biocerámico se ha vuelto popular en endodoncia como material de reparación de la raíz y sellador del conducto radicular debido a sus diversas ventajas, como biocompatibilidad, pH alto (<12), no encogible, no reabsorbible, facilidad de administración en el conducto radicular y aumento de la resistencia del raíz de la siguiente obturación (Candeiro, et al., 2012)

EndoSequence BC Sealer (BC Sealer, Brasseler EE.UU., Savannah, GA, EE.UU.) se ha introducido y se está utilizando en la práctica de la endodoncia (Hess, et al., 2011). Sin embargo, este sellador tiene una corta historia de uso y una investigación limitada relacionada con su uso. recauchutado. Estudios previos sobre selladores biocerámicos han evaluado su fuerza de unión, capacidad de sellado, resistencia a la fractura de la raíz, propiedades de fraguado, citotoxicidad y efectos antibacterianos (Singh, et al., 2016). Sin embargo, existen estudios limitados relacionados con la capacidad de recauchutado de estos selladores.

4.6 Ceraseal.

Ceraseal (CS) (Meta Biomed Co., Cheongju, Corea) es un sellador de material a base de silicato de calcio premezclado, pero desafortunadamente, hay muy poca información en la literatura sobre sus propiedades y desempeño in vitro e in vivo De hecho, se recomiendan propiedades fisicoquímicas apropiadas para estos selladores de conductos radiculares, como baja solubilidad, buena capacidad de sellado, radiopacidad, biocompatibilidad, potencial biológico y actividad antibacteriana (López-García, et al., 2020).

4.7 Bio-C-Sealer.

El sellador Bio-C (Angelus, Londrina, PR, Brasil) es un nuevo sellador biocerámico premezclado desarrollado para el relleno y sellado permanente durante el tratamiento del conducto radicular (Benetti y Cosme-Silva, 2019). Bio-C Sealer está disponible en una sola jeringa, compuesta de silicatos de calcio, aluminato de calcio, óxido de calcio, óxido de circonio, óxido de hierro, dióxido de silicio y agentes dispersantes. Según el fabricante, su bioactividad se atribuye a la liberación de iones calcio que estimulan la formación de tejido mineralizado. Sin embargo, hasta la fecha, pocos estudios han evaluado sus efectos sobre los tejidos periapicales y las células relacionadas (Sultana, et al., 2018). TotalFill BC Sealer (FKG Dentaire SA, La-Chaux-de-fonds, Suiza) es otro sellador a base de biocerámica de silicato de calcio que ha mostrado buenas propiedades físicas y biológicas y tiene la capacidad de liberar iones de calcio.

4.8 Metodología para evaluar actividad Antimicrobiana.

4.8.1 Prueba de Difusión en Agar (ADT)

La difusión en agar se ha utilizado ampliamente como prueba inicial para evaluar la actividad antimicrobiana de los materiales. Permite comparar los selladores de conductos radiculares frente a los microorganismos de prueba. Los resultados están muy influidos por la difusibilidad del material a través del medio (Miyagak, et al., 2006). La prueba de difusión en agar (ADT) era el método más común en el pasado para investigar las propiedades antimicrobianas de los selladores endodónticos (Sipert, et al., 2005). Una de las desventajas de la prueba de ADT es que no distingue algunas propiedades bactericidas. La falta de normalización en la densidad del inóculo, los medios de cultivo, el tamaño de la muestra, el número de especímenes por placa, las condiciones de almacenamiento, la viscosidad del agar, la temperatura y la duración de la incubación pueden afectar significativamente a la evaluación de la eficacia antibacteriana de los selladores endodóntico (Weiss, et al., 1996). Este método es relativamente insensible y semicuantitativo y no distingue entre las propiedades bacteriostáticas o bactericidas de los materiales (Tobias, 1988). La ADT no dependen únicamente de la toxicidad del material para el microorganismo concreto, sino que están muy influidos por la difusibilidad del material a través del medio (Fraga, et al., 1996). Se recomienda utilizar materiales que se difundan más fácilmente proporcionará

probablemente zonas de inhibición más amplias. Así pues, además de la citotoxicidad directa, las diferentes velocidades de difusión de los distintos selladores pueden influir en los resultados.

4.8.2 Prueba de Contacto Directo (DCT)

La prueba de contacto directo es un ensayo cuantitativo que permite analizar materiales insolubles en agua. Se basa en el contacto directo e íntimo entre los microorganismos de prueba y los medicamentos probados y es prácticamente independiente de las propiedades de difusión tanto del material probado como del medio, a diferencia de la prueba de difusión en agar. Es reproducible e insensible al tamaño del inóculo puesto en contacto con el material de prueba. El DCT se basa en la medición del efecto del contacto estrecho entre las bacterias de ensayo y el material ensayado sobre la cinética del crecimiento bacteriano utilizando un espectrofotómetro de microplaca controlado por temperatura (Weiss, et al., 1996). Weiss et al. introdujeron por primera vez una prueba de contacto directo que elude muchos de los problemas de la ADT. La prueba es cuantitativa y reproducible, permite analizar materiales insolubles y puede utilizarse en entornos estandarizados.

La prueba de contacto directo puede ser una prueba más adecuada que la ADT para evaluar las propiedades antibacterianas de los cementos definitivos. Además, esta prueba simula las condiciones orales a diferencia de la ADT. El método también permite un mejor control de los posibles factores de confusión en comparación con la ADT. Es esencial probar los materiales inmediatamente después de la mezcla y también después de un período de tiempo en el que asume su estructura química final, ya que se produce la liberación de diversos productos transitorios y permanentes (Dunne, et al., 1996).

4.9 Metodología para estudiar la biocompatibilidad de los cementos.

4.9.1 Ensayo de viabilidad celular (MTT).

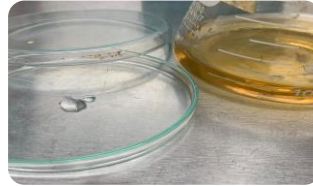
Entre los ensayos de viabilidad que dependen de la conversión de sustrato en producto cromogénico por células vivas, el ensayo MTT sigue siendo uno de los más versátiles y populares. El ensayo MTT implica la conversión del colorante amarillo hidrosoluble MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-bromuro de difeniltetrazolio] en formazán púrpura insoluble por la acción de la reductasa mitocondrial. El resultado es un ensayo sensible con excelente

linealidad hasta ~106 células por pocillo. Al igual que con el ensayo alamarBlue, pequeños cambios en la actividad metabólica pueden generar grandes cambios en el MTT, lo que permite detectar el estrés celular tras la exposición a un agente tóxico en ausencia de muerte celular directa. El ensayo se ha estandarizado para células adherentes o no adherentes cultivadas en múltiples pocillos. El protocolo utiliza una placa estándar de 96 pocillos (Kumar, et al. 2018). El ensayo con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) se utiliza habitualmente para evaluar el potencial citotóxico de fármacos (Angius y Floris, 2015).

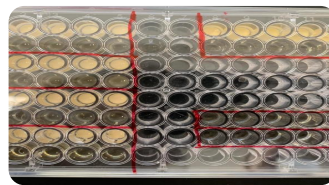
5. MATERIAL Y MÉTODOS:



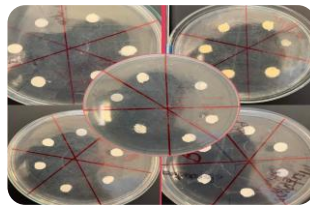
MATERIALES PROBADOS,
CEMENTOS SELLADORES
ENDODÓNTICOS
BIOCERÁMICOS Y GRUPOS
CONTROLES.



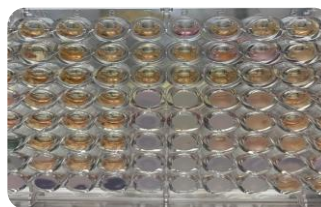
CULTIVO BACTERIANO: *E. faecalis*.



PRUEBA DE CONTACTO
DIRECTO(DCT) DIVISIÓN
POR GRUPO EN
QUINTUPLICADO EN UNA
PLACA DE 96 POCILLOS



PRUEBA DE DIFUSIÓN EN
AGAR(ADT) PARA LA
MEDICIÓN DE HALOS DE
INHIBICIÓN POR
QUINTUPLICADO



ENSAYO DE VIABILIDAD
CELULAR(MTT) EN PLACA
DE 96 POCILLOS Y EL
CULTIVO CELULAR DE
LIGAMENTO



ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE
RESULTADOS POR
LECTURA EN
ESPECTROFOTOMETRO.

Resumen gráfico sobre la metodología empleada.

5.1 Materiales probados

En este estudio se utilizaron tres selladores de conductos radiculares disponibles en el mercado, Endosequence Sealer (Brasseler, Savannah, GA, EE. UU), Ceraseal (Meta Biomed Co., Cheongju, Corea) y Bio-C-Sealer (Angelus, Londrina, PR, Brasil) AH plus y Oxido de Zinc y Eugenol se utilizaron como grupos control. Los selladores se prepararon siguiendo estrictamente las recomendaciones del fabricante. Los materiales mezclados se analizaron antes de que transcurrieran 20 minutos desde la mezcla (designados como muestras frescas) o se dejaron fraguar en una atmósfera húmeda a 37°C durante 24 horas antes de las pruebas.

5.2 Microorganismo de prueba y condiciones de crecimiento.

Se utilizó *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), comúnmente aislado del conducto radicular infectado y empleado ampliamente para probar la actividad antimicótica de los materiales endodóntico. Las bacterias se cultivaron de forma aeróbica a partir de cultivos madre en caldo de infusión de cerebro y corazón (BHI) a 37°C. En todos los casos, se cultivaron durante 18-20 horas. Las células se cosecharon por centrifugación y se resuspendieron en medio. Los inóculos fueron pretratados de las células lavadas a densidades ópticas.

5.3 Prueba de contacto directo - (DCT)

La prueba de contacto directo se basó en la determinación turbidométrica del crecimiento bacteriano en placas de microtitulación por quintuplicado donde se controló el crecimiento en cada pocillo a 37 °C y se registra cada 24 horas el crecimiento con un espectrofotómetro. Para lograr un recubrimiento uniforme en cada pocillo se utilizó un instrumento de tamaño pequeño como aplicador de recubrimiento de cavidades para evitar que el material fluya hacia el fondo del pocillo lo que interferiría con la trayectoria de la luz a través del pocillo de la microplaca y evitar dar lecturas erróneas. Ya pasado el tiempo de trabajo recomendado de los selladores, se colocó una suspensión bacteriana de 10 µl donde se inspecciona los pocillos para observar el contacto directo entre bacterias y el material sellador analizado, mezclamos durante 2 minutos para posteriormente colocar en pocillos libres donde realizamos lectura en el espectrofotómetro.

5.4 Prueba de difusión en agar - (ADT).

Para la prueba de difusión en agar, se realizaron en placas Petri (placas de agar) de 90mm de diámetro y 4 mm de profundidad. Se utilizaron 6 placas para evaluar el efecto antimicrobiano de los cementos selladores endodónticos contra *E. faecalis*. Utilizando las asas de inoculación en las superficies superiores de las placas donde se agregaron 100 µl de suspensión inoculada para posteriormente seccionar en 5 cada placa donde en cada sección se realizaron pocillos de 5 mm de diámetro y 4 mm de profundidad y cada pocillo se llenó individualmente de cada cemento sellador Endosequence Sealer, Ceraseal, Bio C-sealer, AH plus, Oxido de Zinc y Eugenol. Las placas experimentales se conservaron a temperatura ambiente para permitir la difusión de los cementos selladores probados y se colocaron en incubadora a 37 °C durante 48 horas en condiciones aeróbicas.

5.5 Prueba de viabilidad celular (MTT)-Ensayo de citotoxicidad.

Las células de ligamento periodontal (ATCC PCS-201-018) se colocaron en frascos de cultivo en medio suplementado con 10% de suero bovino fetal, donde se colocaron 103 células por pocillo en placas de 96 pocillos y se seccionaron en 5 por cemento analizado, se incubaron durante 24 horas en un 5% de CO₂ y un 95% de aire a 37 °C para poder obtener una monocapa subcofluyente de células. La prueba de citotoxicidad in vitro de los cementos sobre las células se realizó con 5 pocillos por material y por periodo de tiempo de 24 y 48 horas, se tomaron 5 muestras por cemento en total 30 en total, se colocó sales de tetrazol amarillo para medir la actividad metabólica celular en los pocillos, esta solución se redujo a formazán morado en células vivas y que generalmente se convirtió en dimeti-sulfóxido que dio lugar a una solución coloreada morada. La absorbancia de esta solución fue cuantificada por densidad óptica midiendo la longitud de onda en 595nm con un lector espectrofotómetro.

5.6 Análisis Estadístico:

Se han utilizado como métodos estadísticos la prueba Kruskal Wallis como método para corroborar si existen diferencias relevantes a nivel estadístico entre dos o más grupos de una variable independiente, Prueba de Fold change para describir cuánto cambia una cantidad entre la medición original y una posterior para definir la relación entre las cantidades descritas. La prueba ANOVA o análisis de varianza será un método estadístico que usamos para descubrir si los resultados de una prueba son significativos, es decir, permiten determinar si es necesario rechazar la hipótesis nula o aceptar la hipótesis alternativa.

6. RESULTADOS

6.1 Actividad antimicrobiana en prueba de contacto directo (DCT).

Los resultados de la prueba DCT para los selladores endodónticos, nos muestran que hubo crecimiento bacteriano en algunas pruebas e inhibición completa en diferentes pocillos, tomando como referencia al grupo de Óxido de Zinc y Eugenol para ambos tiempos de exposición en cuanto a la diferencia de absorbancia entre el tiempo de exposición y el tiempo final se observó un efecto menor (respecto al control de referencia) con Endosequence Sealer, seguido por Bio-C sealer y Ceraseal; se observó una mayor diferencia o veces de cambio una vez que entro a 1 minuto de tiempo de exposición que con 5 minutos.

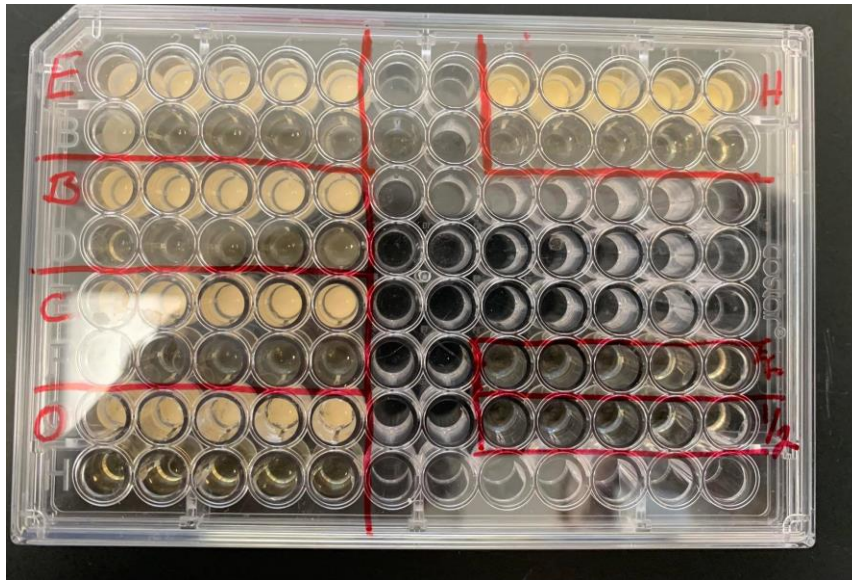


Figura 1: Placa de 96 pocillos donde se realizó la separación de materiales para las pruebas de contacto directo.

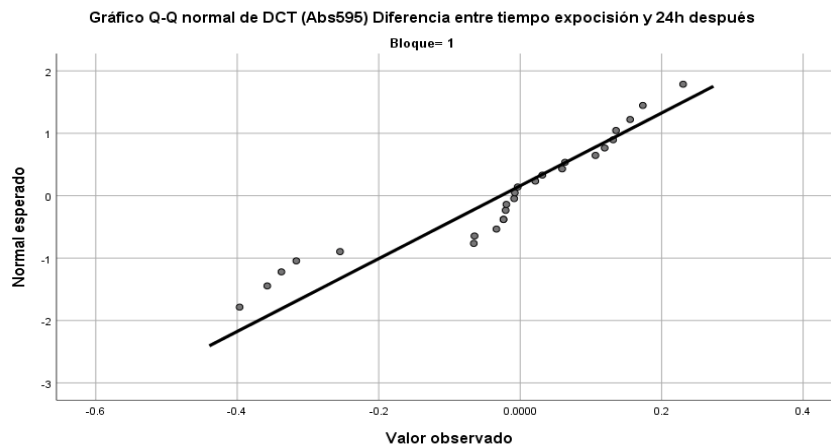


Gráfico1: Gráficos de prueba de normalidad de exposición en prueba DCT, tiempos de exposición 1 minuto

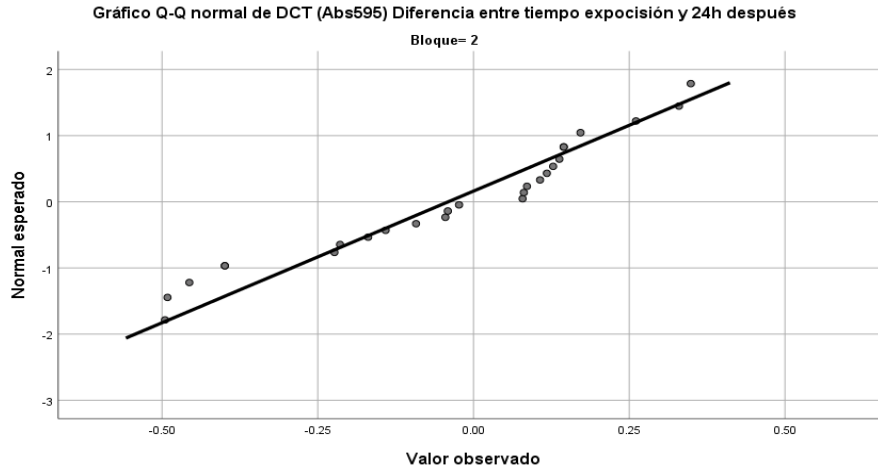


Gráfico 2: Gráfico de prueba de normalidad de exposición en prueba de DCT, tiempos de exposición 5 minutos.

ANOVA^a

DCT (Abs595) Diferencia entre tiempo exposición y 24h después

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1.431	5	0.286	38.815	0.000
Dentro de grupos	0.147	20	0.007		
Total	1.578	25			

a. Bloque = 2

Tabla 1: Prueba de ANOVA basada en la lectura de los diferentes resultados donde refleja que no hay una diferencia significativa entre los cementos y sus efectos antimicrobianos.

Las pruebas de normalidad nos reflejan una distribución normal con los datos del experimento por lo tanto en ambos experimentos se observó que en los tres cementos biocerámicos la absorbancia fue mayor durante el tiempo de exposición, respecto al tiempo final de 24 horas, con Endosequence sealer y Bio-C sealer se observó mayor absorbancia en el tiempo de exposición de 1 min que con 5 minutosm mientras que con Ceraseal en ambos casos se obtuvieron lecturas similares en ambos tiempos de exposición a bacterias.

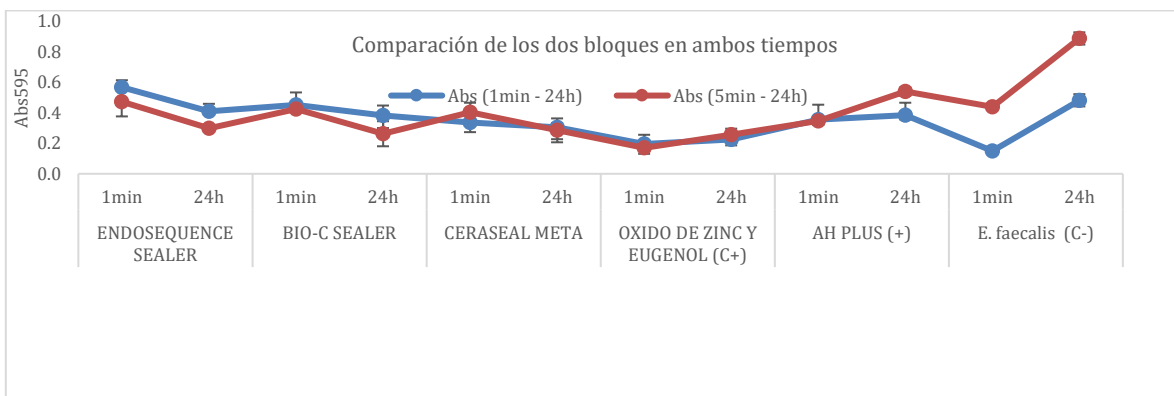


Gráfico 3: Comparación de ambos tiempos y absorbancia que tuvieron los cementos biocerámicos respecto a los grupos control la medición de la absorbancia se midió con espectrofotómetro a 595nm.

6.2 Medición de halos de inhibición en placas de agar(ADT)

Los halos de inhibición obtenidos en los sensidiscos fueron medidos por el inicio del crecimiento bacteriano y se obtuvo un promedio en los cementos biocerámicos 0.35 a 0.40cm donde se observó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. El análisis más detallado reveló que óxido de zinc y eugenol son diferentes a todos los demás cementos selladores, pero no hay diferencia significativa entre los cementos selladores biocerámicos y el Ahplus.

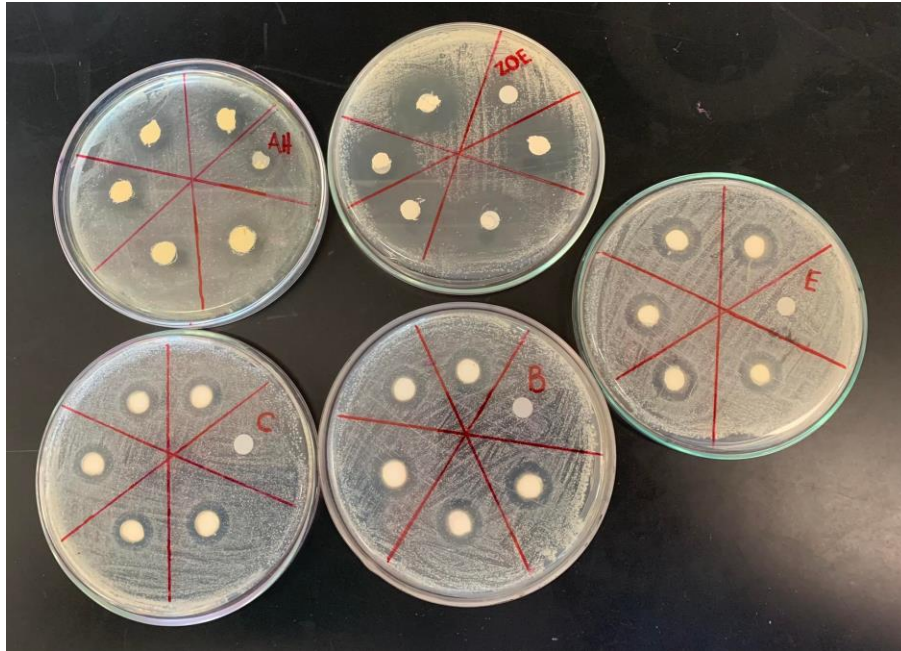


Figura 2: Sensidiscos de prueba de difusión en agar(ADT) con halos de inhibición obtenidos por cultivo.

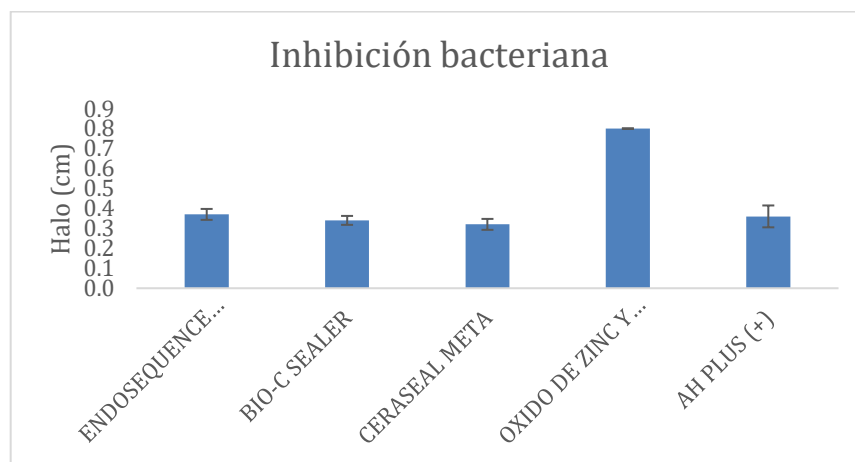


Gráfico 4: Gráfico de barras donde muestran que los tres cementos biocerámicos se comportaron con el mismo efecto antimicrobiano en la prueba de sensidiscos, semejantes a

AHplus, pero el óxido de zinc y eugenol fue el que tuvo el mayor efecto antimicrobiano de todas las pruebas.

Pruebas de normalidad						
Halo (cm)	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halo (cm)	0.380	25	0.000	0.641	25	0.000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Tabla 2: Prueba de normalidad basada en la lectura de mediciones de resultados donde refleja que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los cementos biocerámicos en su actividad antimicrobiana.

Los tres cementos biocerámicos se comportaron con el mismo efecto antimicrobiano en la prueba de sensidiscos, semejantes a AHplus. El Oxido de Zinc y Eugenol fue el que obtuvo un mayor efecto antimicrobiano en todos los tratamientos.

6.3 Citotoxicidad de cementos selladores endodónticos (MTT).



Figura 3: Placa de 96 pocillos de prueba de viabilidad celular para obtener lectura en espectrofotómetro.

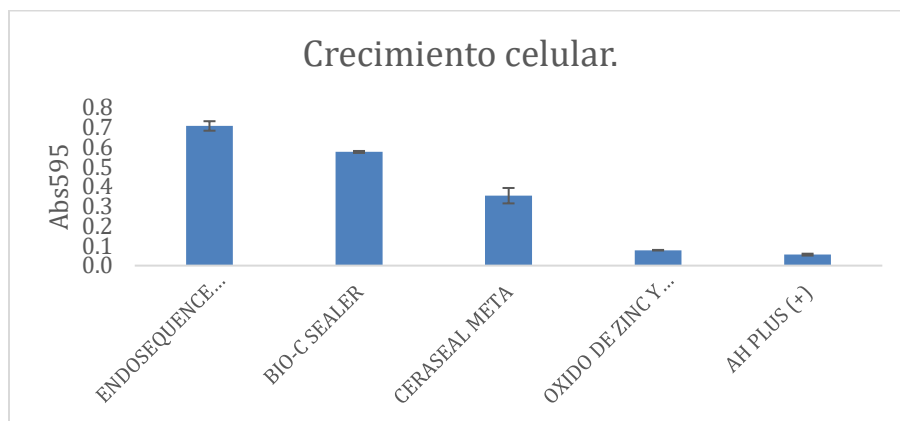


Gráfico 5: Gráfico de lectura de crecimiento celular de los diferentes grupos de cementos selladores endodónticos.

Se analizó la viabilidad celular de las células de ligamento periodontal humana en 5 pocillos por cada grupo de cemento sellador, donde se detectaron diferencias significativas entre los grupos, específicamente las diferencias fueron los biocerámicos y los grupos del ZOE y Ahplus. Se observó también con la lectura en el espectrofotómetro que Endosenquence sealer hubo 8 veces más crecimiento celular, con Bio-C sealer hubo 6.3 veces más crecimiento, Ceraseal tuvo 3.5 veces más crecimiento celular en comparación al ZOE. El grupo del AH-plus se observó una ligera reducción o decremento en el crecimiento de células.

	Pruebas de normalidad					Sig.
	Estadístico	gl	Sig.	Shapiro-Wilk Estadístico	gl	
abs (595nm)	0.246	12	0.044	0.859	12	0.048

Corrección de significación de Lilliefors

Tabla 3: Prueba de normalidad realizada con la lectura de los cementos biocerámicos donde no hay diferencia estadísticamente significativa entre la biocompatibilidad sobre las células.

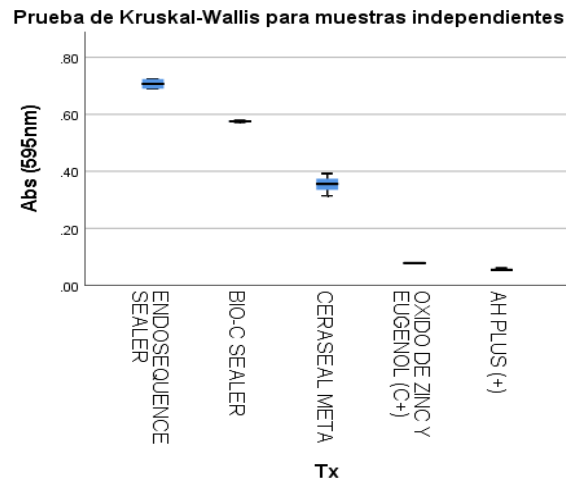


Gráfico 6: Gráfico de absorbancia entre los cementos donde se puede observar los valores de normalidad y no hay una desviación en los resultados.

Tomando en cuenta con los resultados obtenidos podemos observar que hubo un mayor crecimiento de células de ligamento periodontal con los tres cementos biocerámicos que con los controles AHplus y Óxido de Zinc y Eugenol. El mayor crecimiento celular se observó con Endosequence sealer, seguido por Bio-C sealer y Ceraseal.

7. DISCUSIÓN:

Se han realizado diferentes estudios sobre los cementos selladores biocerámicos para determinar sus propiedades antimicrobianas y citotoxicidad sobre células, ya que una de las propiedades deseables en un cemento sellador endodóntico es que pueda cumplir con una actividad antimicrobiana para evitar la futura reinfección de conductos radiculares (Kumar, et al. 2023). Silva et al. 2017 evaluaron la citotoxicidad, la radiopacidad y la evaluación del flujo la realizaron siguiendo los requisitos del fabricante. El nivel de pH se midió en períodos de 3, 24 horas. La citotoxicidad se evaluó mediante el ensayo de bromuro de tetrazol de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenilo para comprobar la viabilidad de las células en períodos de 1 a 4 semanas. Los datos se analizaron estadísticamente mediante el análisis de la varianza y la prueba de Tukey con un nivel de significación del 0,05% (Silva et al. 2017).

También se evaluaron cementos selladores biocerámicos como EndoSequence BC (Brasseler, Savannah, GA), MTA Fillapex (Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A, Londrina, PR, Brasil) y un sellador de control (AH Plus; Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Alemania). Los fibroblastos gingivales humanos los incubaron durante 3 días tanto con los extractos de materiales frescos como con los materiales fraguados en medio de cultivo y se cultivaron en la superficie de los materiales fraguados en medio Eagle modificado por Dulbecco. Los fibroblastos cultivados en medio Eagle modificado por Dulbecco se utilizaron como grupo de control. La citotoxicidad la evaluaron mediante citometría de flujo, y la adhesión de los fibroblastos a la superficie de los materiales fijados se evaluó mediante microscopía electrónica de barrido. Los datos de citotoxicidad celular se analizaron estadísticamente mediante una prueba de análisis de varianza de 1 vía con un nivel de significación de $P < 0,05$ (Zhou et al. 2015).

También la metodología utilizada en este estudio se realizó basado al artículo de Weiss, et al. 1996 las cuales están basadas en diferentes investigaciones actuales de la utilización de prueba de contacto directo y difusión sobre agar para determinar la actividad antimicrobiana de diferentes cementos selladores endodónticos el cual nos permite tener un registro mediante conteo basado en lectura por espectrofotómetro el cual nos proporciona una información

detallada exacta de absorción de diferentes grupos. López-García en el 2020 realizó un estudio para evaluar selladores biocerámicos donde también encontraron una mayor viabilidad celular, adhesión celular, tasas de migración celular y liberación de iones para una mayor expresión génica y una capacidad de mineralización en la reparación de tejidos. (López-García, et al. 2020).

En el presente estudio se analizaron las propiedades antimicrobianas, así como de la biocompatibilidad que hay presente en los cementos selladores a base de biocerámicos así como la citotoxicidad, demostraron una excelente biocompatibilidad in vitro los cementos Endosequence Sealer, Bio-C sealer y Ceraseal aparte de poder aportar una actividad antimicrobiana aceptable y promueven la proliferación celular reparativa. Se observaron mediante la prueba de contacto directo mayores resultados obtenidos en los cementos biocerámicos en la absorbancia conforme fueron expuestos a mayor tiempo a las bacterias en la cual con los datos de actividad antimicrobiana podemos obtener un resultado de análisis de varianza menor al nivel de significancia entre los grupos menor a $P < 0,05$.

También tomando en cuenta con los resultados de citotoxicidad de los cementos podemos observar como los 3 cementos biocerámicos Endosequence Sealer, Bio-C sealer y Ceraseal tienen un potencial crecimiento celular comparado con los cementos tradicionales que hubo un decremento o reducción de células de ligamento periodontal lo que representan los cementos biocerámicos una excelente opción para complementar el uso de un material que ayude a la regeneración celular y agregado a un efecto antimicrobiano en endodoncia.

Benetti et al. En el 2019 evaluó la citotoxicidad y biocompatibilidad de un sellador endodóntico biocerámico (Sealer Plus BC) en comparación con los de MTA fillapex y AH plus. Cultivaron fibroblastos y evaluaron la viabilidad celular de extractos diluidos de cada sellador a las 24 horas. Observaron una reducción celular en los grupos de AH plus y MTA fillapex obteniendo una mayor inflamación celular ($p > 0,05$). Por el cual obtuvieron que Sealer Plus BC es más biocompatible en comparación con MTA Fillapex y AHplus (Benetti F, et al. 2019). Comparando la investigación de Benetti con nuestra investigación también obtuvimos una mayor biocompatibilidad en las células ya que nuestro valor en la prueba de normalidad obtenemos un resultado menor a valor de $P < 0,048$ en los grupos de los biocerámicos, comparado con los grupos controles que obtuvieron una reducción del 0.28

veces de las células analizado con pruebas de Kruskal-Wallis donde ($P < 0,05$). Con el cual podemos deducir que, aunque no haya diferencia significativa en los resultados de los cementos biocerámicos, Endosequence BC sealer fue el que obtuvo 8 veces más crecimiento celular seguido de Bio-C sealer con 6.3 veces más crecimiento y como último Ceraseal 3.5 veces mayor crecimiento de células comparado con los grupos controles.

8. CONCLUSIONES

De acuerdo con lo obtenido en este estudio in vitro podemos concluir que los cementos selladores biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer presentan propiedades antimicrobianas deseables y un mayor potencial crecimiento celular por el cual con los resultados obtenidos podemos determinar que su baja citotoxicidad sobre células los hacen una excelente opción para la mejora de los resultados clínicos en el tratamiento de endodoncia y de esa manera aumentar la respuesta celular reparativa.

9. BIBLIOGRAFÍA.

- 1.-Abedi-Amin, A.; Luzi, A.; Giovarruscio, M.; Paolone, G.; Darvizeh, A.; Agulló, V.V.; Sauro, S. Innovative root-end filling materials based on calcium-silicates and calcium-phosphates. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2017, 28, 31.
- 2.-Alghamdi F., Shakir M. The Influence of *Enterococcus Faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus.* 2020;12:e7257.
- 3.-Alsubait, S.; Albader, S.; Alajlan, N.; Alkhunaini, N.; Niazy, A.; Almahdy, A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms: A confocal laser-scanning microscopy analysis. *Odontology* 2019, 107, 513–520.
- 4.-Aminoshariae A, Primus C, Kulild JC. Tricalcium silicate cement sealers: Do the potential benefits of bioactivity justify the drawbacks? *J Am Dent Assoc.* 2022 Aug;153(8):750-760.
- 5.-Angius F, Floris A. Liposomes and MTT cell viability assay: an incompatible affair. *Toxicol In Vitro.* 2015 Mar;29(2):314-9.
- 6.- Benetti F, de Azevedo Queiroz ÍO, Oliveira PHC, Conti LC, Azuma MM, Oliveira SHP, Cintra LTA. Cytotoxicity and biocompatibility of a new bioceramic endodontic sealer containing calcium hydroxide. *Braz Oral Res.* 2019;33:e042.
- 7.-Bernardi, A.; Bortoluzzi, E.A.; Felipe, W.T.; Felipe, M.C.S.; Wan, W.S.; Teixeira, C.S. Effects of the addition of nanoparticulate calcium carbonate on setting time, dimensional change, compressive strength, solubility and pH of MTA. *Int. Endod. J.* 2017, 50, 97–105.
- 8.-Bortoluzzi, E.A.; Cassel de Araújo, T.; Carolina Corrêa Néis, A.; Cássia Dos Santos, M.; da Fonseca Roberti Garcia, L.; Dulcinéia Mendes Souza, B.; da Silveira Teixeira, C. Effect of different water-to-powder ratios on the dimensional stability and compressive strength of mineral aggregate-based cements. *Eur. Oral Res.* 2019, 53, 94–98.
- 9.-Camilleri, J. Sealers and warm gutta-percha obturation techniques. *J. Endod.* 2015, 41, 72–78.
- 10.-Candeiro GT, Correia FC, Duarte MA, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod* 2012;38:842-5.
- 11.-Cavenago, B.C.; Pereira, T.C.; Duarte, M.A.H.; Ordinola-Zapata, R.; Marciano, M.A.; Bramante, C.M.; Bernardineli, N. Influence of powder-to-water ratio on radiopacity, setting time, pH, calcium ion release and a micro-CT volumetric solubility of white mineral trioxide aggregate. *Int. Endod. J.* 2014, 47, 120–126.
- 12.-Collado-González M, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Ortolani-Seltenerich PS, Lozano A, Forner L, Llena C, Rodríguez-Lozano FJ. Biocompatibility of three new calcium silicate-based endodontic sealers on human periodontal ligament stem cells. *Int Endod J.* 2017 Sep;50(9):875-884.

- 13.-Colombo M, Poggio C, Dagna A, Meravini MV, Riva P, Trovati F, Pietrocola G. Biological and physico-chemical properties of new root canal sealers. *J Clin Exp Dent*. 2018 Feb 1;10(2):e120-e126
- 14.-Dawood AE, Parashos P, Wong RHK, Reynolds EC, Manton DJ. Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. *J Investig Clin Dent*. 2017 May;8(2).
- 15.-Debelian, G.; Trope, M. The use of premixed bioceramic materials in endodontics. *G. Ital. Di Endod*. 2016, 30, 70–80.
- 16.-Drukteinis, S.; Peciuliene, V.; Shemesh, H.; Tusas, P.; Bendinskaite, R. Porosity Distribution in Apically Perforated Curved Root Canals Filled with Two Different Calcium Silicate Based Materials and Techniques: A Micro-Computed Tomography Study. *Materials* 2019, 12, 1729.
- 17.-Duarte MAH, Marciano MA, Vivian RR, Tanomaru Filho M, Tanomaru JMG, Camilleri J. Tricalcium silicate-based cements: properties and modifications. *Braz Oral Res*. 2018 Oct 18;32(suppl 1):e70.
- 18.-Duarte, M.A.H.; Marciano, M.A.; Vivian, R.R.; Tanomaru Filho, M.; Tanomaru, J.M.G.; Camilleri, J. Tricalcium silicate-based cements: Properties and modifications. *Braz. Oral Res*. 2018, 32, e70.
- 19.-Dunne SM, Goolnik JS, Millar BJ, Seddon RP. Caries inhibition by a resin-modified and a conventional glass ionomer cement, in vitro. *J Dent*. 1996 Jan-Mar;24(1-2):91–94
- 20.-Duque, J.A.; Fernandes, S.L.; Bubola, J.P.; Duarte, M.A.H.; Camilleri, J.; Marciano, M.A. The effect of mixing method on tricalcium silicate-based cement. *Int. Endod. J*. 2018, 51, 69–78.
- 21.-Fraga RC, Siqueira Jr JF, deUzeda M. In vitro evaluation of antibacterial effects of photo-cured glass ionomer liners and dentin bonding agents during setting. *J Prosthet Dent* 1996;76:483–6.
- 22.-Fransson H, Dawson V. Tooth survival after endodontic treatment. *Int Endod J*. 2023 Mar;56 Suppl 2:140-153.
- 23.-Haapasalo, M.; Endal, U.; Zandi, H.; Coil, J.M. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod. Top*. 2005, 10, 77–102.
- 24.-Hancock HH, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North Am population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91:579-86.
- 25.-iang HW. Theory and practice of minimally invasive endodontics. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2016 Aug;51(8):460-4.
- 26.-Jain P, Ranjan M. The rise of bioceramics in endodontics: A review. *Int J Pharm Bio Sci* 2015;6(1):416-422.
- 27.-Jeong, J.W.; DeGraft-Johnson, A.; Dorn, S.O.; Di Fiore, P.M. Dentinal Tubule Penetration of a Calcium Silicate-based Root Canal Sealer with Different Obturation Methods. *J. Endod*. 2017, 43, 633–637.

- 28.-Kharouf, N.; Hemmerlé, J.; Haikel, Y.; Mancino, D. Technical Quality of Root Canal Filling in Preclinical Training at Strasbourg University Using Two Teaching Protocols. *Eur. J. Dent.* 2019, 13, 521–526.
- 29.-Komabayashi T, Colmenar D, Cvach N, Bhat A, Primus C, Imai Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. *Dent Mater J.* 2020 Sep 29;39(5):703-720.
- 30.-Kumar A, Kour S, Kaul S, Malik A, Dhani R, Kaul R. Cytotoxicity evaluation of Bio-C, CeraSeal, MTA - Fillapex, and AH Plus root canal sealers by microscopic and 3-(4, 5 dimethylthiazol-2yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. *J Conserv Dent.* 2023 Jan-Feb;26(1):73-78
- 31.-Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD. Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harb Protoc.* 2018 Jun 1;2018(6).
- 32.-López-García S, Lozano A, García-Bernal D, Forner L, Llena C, Guerrero-Gironés J, Moraleda JM, Murcia L, Rodríguez-Lozano FJ. Biological Effects of New Hydraulic Materials on Human Periodontal Ligament Stem Cells. *J Clin Med.* 2019 Aug 14;8(8):1216.
- 33.-López-García S, Myong-Hyun B, Lozano A, García-Bernal D, Forner L, Llena C, Guerrero-Gironés J, Murcia L, Rodríguez-Lozano FJ. Cytocompatibility, bioactivity potential, and ion release of three premixed calcium silicate-based sealers. *Clin Oral Investig.* 2020 May;24(5):1749-1759.
- 34.-López-García, S.; Myong-Hyun, B.; Lozano, A.; García-Bernal, D.; Forner, L.; Llena, C.; Guerrero-Gironés, J.; Murcia, L.; Rodríguez-Lozano, F.J. Cytocompatibility, bioactivity potential, and ion release of three premixed calcium silicate-based sealers. *Clin. Oral Investig.* 2020, 24, 1749–1759.
- 35.-Loushine BA, Bryan TE, Looney SW, Gillen BM, Loushine RJ, Weller RN, et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod* 2011; 37:673-7.
- 36.-Mattigatti S, Jain D, Ratnakar P, Moturi S. Antimicrobial effect of conventional root canal medicament vs. propolis against *Enterococcus faecalis*, *staph aureus* and *candida albicans*. *J Contemp Dent Pract* 2012; 13:305-9.
- 37.-Mattigatti, S. (2012). Antimicrobial Effect of Conventional Root Canal Medicaments vs Propolis against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 305–309.
- 38.-McMichael, G.E.; Primus, C.M.; Opperman, L.A. Dentinal Tubule Penetration of Tricalcium Silicate Sealers. *J. Endod.* 2016, 42, 632–636
- 39.-Miyagak DC, de Carvalho EM, Robazza CR, Chavasco JK, Levorato GL. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. *Braz Oral Res* 2006; 20: 303–6.
- 40.-Moinzadeh, A.T.; Aznar Portoles, C.; Schembri Wismayer, P.; Camilleri, J. Bioactivity Potential of EndoSequence BC RRM Putty. *J. Endod.* 2016, 42, 615–621.
- 41.-Moinzadeh, A.T.; Zerbst, W.; Boutsoukis, C.; Shemesh, H.; Zaslansky, P. Porosity distribution in root canals filled with gutta percha and calcium silicate cement. *Dent. Mater.* 2015, 31, 1100–1108.

- 42.-Park, E.; Shen, Y.; Haapasalo, M. Irrigation of the apical root canal. *Endod. Top.* 2012, 27, 54–73
- 43.-Poggio, C.; Trovati, F.; Ceci, M.; Colombo, M.; Pietrocola, G. Antibacterial activity of different root canal sealers against *Enterococcus faecalis*. *J. Clin. Exp. Dent.* 2017, 9, e743–e748.
- 44.-Rôças IN, Lima KC, Siqueira JF Jr. Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation--a clinical study. *Int Endod J.* 2013 Jul;46(7):681-7.
- 45.-Rodríguez-Lozano FJ, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Ortolani-Seltenerich PS, Forner L, Moraleda JM. Evaluation of cytocompatibility of calcium silicate-based endodontic sealers and their effects on the biological responses of mesenchymal dental stem cells. *Int Endod J.* 2017 Jan;50(1):67-76.
- 46.-Sanz JL, Guerrero-Gironés J, Pecci-Lloret MP, Pecci-Lloret MR, Melo M. Biological interactions between calcium silicate-based endodontic biomaterials and periodontal ligament stem cells: A systematic review of in vitro studies. *Int Endod J.* 2021 Nov;54(11):2025-2043.
- 47.-Shenoy A, Shenoy N. Dental ceramics: An update. *J Conserv Dent* 2010;13(4):195-203.
9. Nasseh A. The rise of bioceramics. *Endod Practice* 2009;2:17-22.
- 48.-Siboni F, Taddei P, Prati C, Gandolfi MG. Properties of NeoMTA Plus and MTA Plus cements for endodontics. *Int Endod J.* 2017 Dec;50 Suppl 2:e83-e94.
- 49.-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.* 2017 Dec;50 Suppl 2:e120-e136.
- 50.-Siboni, F.; Taddei, P.; Zamparini, F.; Prati, C.; Gandolfi, M.G. Properties of BioRoot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. *Int. Endod. J.* 2017, 50 (Suppl. 2), e120–e136.
- 51.-Silva Almeida LH, Moraes RR, Morgental RD, Pappen FG (2017) Are premixed calcium silicate-based endodontic sealers comparable to conventional materials? A systematic review of in vitro studies. *J Endod* 43(4):527–535.
- 52.-Silva Almeida, L.H.; Moraes, R.R.; Morgental, R.D.; Pappen, F.G. Are Premixed Calcium Silicate-based Endodontic Sealers Comparable to Conventional Materials? A Systematic Review of In Vitro Studies. *J. Endod.* 2017, 43, 527–535.
- 53.-Singh G, Gupta I, Elshamy FM, Boreak N, Homeida HE. *In vitro* comparison of antibacterial properties of bioceramic- based sealer, resin-based sealer and zinc oxide eugenol based sealer and two mineral trioxide aggregates. *Eur J Dent* 2016;10:366-9.
- 54.-Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008 Nov;34(11):1291-1301.e3.
- 55.-Siqueira JF, Rôças IN. Polymerase chain reaction–based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2004;97(1):85-94.
- 56.-Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006;32:93-8.

- 57.-Tobias RS. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. *Int Endod J.* 1988 Mar;21(2):155-60.
- 58.-Torabinejad M, Parirokh M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview - part II: other clinical applications and complications. *Int Endod J.* 2018 Mar;51(3):284-317.
- 59.-Urban, K.; Neuhaus, J.; Donnermeyer, D.; Schäfer, E.; Dammaschke, T. Solubility and pH Value of 3 Different Root Canal Sealers: A Long-term Investigation. *J. Endod.* 2018, 44, 1736–1740.
- 60.-Weiss EI, Shalhav M, Fuss Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. *Endod Dent Traumatol.* 1996 Aug;12(4):179-84.
- 61.-Weiss EI, Shalhav M, Fuss Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. *Dent Traumatol.* 1996;12:179–84.
- 62.-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.* 2022 Nov 11;23(22):13914.
- 63.-Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2009;35:1051-5.

RESUMEN BIOGRÁFICO.

Bernardo Hernández Sandoval

Candidato para el Grado de
Maestría en Ciencias Odontológicas con Acentuación en Endodoncia

Tesis: **ESTUDIO IN VITRO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA, Y LA CITOTOXICIDAD EN CELULAS DE LIGAMENTO PERIODONTAL, DE LOS CEMENTOS BIOCERAMICOS ENDOSEQUENCE SEALER, CERASEAL Y BIO-C-SEALER.**

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León, hijo de José Fermín Hernández Montes y Leonor Sandoval González

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Licenciatura como Cirujano Dentista en 2019

Experiencia Profesional: Instructor Oficial de la unidad de aprendizaje Materiales Dentales, en el departamento de Materiales Dentales Pregrado, en la Facultad de Odontología del año 2016 al 2019.