



**Facultad de Odontología
Programa de Especialización
en Endodoncia**



“Penetración tubular de una nueva medicación intraconducto en base a silicato de calcio: estudio mediante microscopía confocal láser”.

**Trabajo de investigación
Requisito para optar al título de Especialista en Endodoncia.**

Residente:
Dra. María Consuelo Magasich Arze

Docente Guía:
Dra. Alicia Caro M

Directora del Programa:
Dra. Alicia Caro

VALPARAÍSO-CHILE, 2022.

Tabla de contenido

I.	INTRODUCCIÓN	3
II.	MARCO TEÓRICO	5
1.	<i>Principios del tratamiento endodóntico</i>	5
2.	<i>Principios microbiológicos</i>	6
3.	<i>Medicación intraconducto</i>	7
•	Hidróxido de calcio	9
•	Materiales en base a silicato de calcio	11
III.	PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	13
	<i>Hipótesis Nula:</i>	14
IV.	OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	14
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
•	<i>Tipo y diseño de estudio:</i>	15
•	<i>Población en estudio:</i>	15
•	<i>Muestreo:</i>	15
	Cálculo de tamaño muestral	15
	Selección de la muestra	15
•	<i>Criterios de Inclusión y exclusión:</i>	15
	Criterios de inclusión:	15
	Criterios de exclusión:	16
•	<i>Variables:</i>	17
•	<i>Estandarización de los procedimientos:</i>	18
1.	Recolección de Muestras.	18
2.	Desbridaje y limpieza de la muestra.	18
3.	Tomografía de estudio.	18
4.	Preparación de la muestra	18
5.	Preparación biomecánica de los conductos radiculares:	18
6.	Asignación de grupos	20
7.	Protocolo de mezcla de medicamento.	20
8.	Protocolo de medicación.	20
a.	Protocolo Bio-C Temp:	20
b.	Protocolo Ultracal XS:	20
9.	Obturación temporal	21
10.	Incubación	21
11.	Cortes y preparación de muestra	21
12.	Evaluación mediante microscopía confocal láser	22
VI.	RESULTADOS	23
VII.	DISCUSIÓN	26
VIII.	CONCLUSIÓN	29
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

I. INTRODUCCIÓN

La presencia de microorganismos es una de las principales causas de patologías pulpares y periapicales, por tanto, el éxito del tratamiento endodóntico depende en gran medida del control y la eliminación de los patógenos.

La instrumentación del sistema de conductos radiculares (SCR) es una etapa fundamental para la reducción de la carga microbiana presente. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que la conformación de los conductos es incapaz de abarcar todas las irregularidades del complejo sistema de conductos, dejando un porcentaje importante de paredes sin tocar. Estas zonas no instrumentadas pueden significar la persistencia de microorganismos, poniendo en riesgo el éxito del tratamiento. A partir de esto, la preparación química de los conductos se torna fundamental para la desinfección de áreas no instrumentadas del SCR.

Si bien la preparación químico-mecánica de los conductos radiculares es considerada un método complementario eficiente para la eliminación de la microbiota endodóntica, especies resistentes pueden poner en riesgo el éxito del tratamiento, ya que presentan una gran respuesta adaptativa al pH alcalino y una alta penetración en los túbulos dentinarios, dificultando de sobremanera su eliminación. Numerosos autores aseguran que las actuales técnicas de instrumentación e irrigación son incapaces de desinfectar predeciblemente los conductos radiculares, proponiendo el uso de sustancias antibacterianas entre sesiones para potenciar la desinfección de los conductos antes de su obturación.

El hidróxido de calcio, es la medicación intraconducto más estudiada y utilizada en endodoncia. Dentro de sus propiedades se describe la difusión de

los iones a través de los túbulos dentinarios alcanzando una profundidad de hasta 150µm, lo que para algunas especies bacterianas resistentes puede resultar insuficiente.

Por otro lado, el uso de materiales en base a silicato de calcio en endodoncia se ha masificado en los últimos años. Sus propiedades antibacterianas y bioactivas, sumado a su pequeño tamaño de partícula, hacen que este tipo de materiales sean considerados ideales para solucionar un importante número de situaciones endodónticas. Durante los últimos años, se ha comenzado a incursionar en la utilización de este tipo de materiales para su uso como medicación intraconducto, basándose en el pequeño tamaño de partícula y su alto pH, lo que supone una mayor difusión a través de los túbulos dentinarios con una gran actividad antibacteriana. Esto podría suplir algunas de las falencias que presenta el hidróxido de calcio, principalmente respecto a su profundidad de acción.

El objetivo del presente estudio es analizar, mediante microscopía confocal láser la penetración tubular de Bio-C Temp, tomando en consideración el área, profundidad máxima y porcentaje de penetración.

II. MARCO TEÓRICO

1. Principios del tratamiento endodóntico

La terapia endodóntica tiene por objetivos curar o prevenir la periodontitis perirradicular, permitiéndole a los pacientes puedan conservar sus dientes naturales en función y estética (1,2). Consiste en la eliminación del tejido pulpar afectado y/o microorganismos y sus toxinas, con el fin de obtener reparación de los tejidos periapicales.

Independiente del diagnóstico pulpar inicial, el tratamiento endodóntico sigue etapas bien definidas y secuenciales que comienzan con la apertura o acceso endodóntico, extirpación del tejido pulpar (biopulpectomía/necropulpectomía), preparación bioquímico mecánica del sistema de conductos radiculares y la obturación radicular. La medicación del conducto radicular entre sesiones es una etapa utilizada frecuentemente en casos de necropulpectomía y su principal objetivo es potenciar los procedimientos de desinfección (3). No obstante, se ha descrito que la medicación de los conductos entre sesiones en casos de biopulpectomía puede seguir un fin antiinflamatorio y de blindaje para impedir el ingreso de microorganismos desde una restauración provisoria o desalojada (4).

Biopulpectomía dice relación a la remoción del tejido pulpar vital que es afectado irreversiblemente. Se describen como agentes causales bacterias y sus productos, así como también factores físicos y/o químicos. En algunas ocasiones, puede existir la necesidad de eliminación del tejido pulpar sin la existencia de una alteración de la misma, si no por indicación de otras especialidades odontológicas, como es un tratamiento protésico.

Por otro lado, la necropulpectomía, consiste en la remoción del tejido pulpar no vital, donde se describe como principal etiología los microorganismos que

afectan a la pulpa mediante diferentes vías, siendo la enfermedad de caries una de las más comunes.

2. Principios microbiológicos

Los microorganismos son la principal causa de patologías pulpares y periapicales, por tanto el éxito del tratamiento endodóntico depende en gran medida del control y la eliminación de éstos (5).

La instrumentación de los conductos radiculares es una etapa fundamental para la reducción del número de microorganismos, sin embargo, este procedimiento por sí solo es incapaz de reducir la carga bacteriana a niveles de salud. Diversos estudios han descrito que la conformación de los conductos, independiente del sistema utilizado, deja un 35% de las paredes sin instrumentar (6), por lo que estas superficies no tocadas por los instrumentos, pueden significar el inicio o la persistencia de una infección perirradicular (7). A partir de esto, el complemento químico durante la preparación de los conductos se torna fundamental para la desinfección de estas áreas no instrumentadas e irregularidades de un complejo sistema de conductos radiculares.

Por otra parte, el polimorfismo de la microbiota endodóntica y su compleja organización al interior de los conductos radiculares, puede significar que los agentes irrigantes utilizados durante el tratamiento sean insuficiente para la erradicación de ciertos microorganismos resistentes (8,9). Se ha descrito que especies como el *Enterococcus Faecalis* y *Fusobacterium Nucleatum*, corresponden a microorganismos muy resistentes a los procedimientos endodónticos, debido a su respuesta adaptativa al pH alcalino y alta penetración en los túbulos dentinarios que puede llegar a alcanzar 300 µm de profundidad

(10–12). Autores como Vera et al. (3) y Alrahman et al. (13), aseguran que las actuales técnicas de instrumentación e irrigación son incapaces de desinfectar predeciblemente el sistema de conductos radiculares y que el uso de sustancias antibacterianas entre las sesiones del tratamiento son necesarias para maximizar la reducción bacteriana antes de realizar la obturación de los conductos radiculares.

3. Medicación intraconducto

La medicación intraconducto corresponde al posicionamiento, entre las sesiones, de un medicamento dentro del sistema de conductos radiculares y tiene por finalidad potenciar el efecto de desinfección logrado durante la etapa de la preparación químico-mecánica. Si bien es un procedimiento que puede ser selectivo durante el tratamiento endodóntico, es frecuentemente utilizado en el tratamiento de dientes necróticos, más que en aquellos de dientes vitales (14).

Lopes y Siqueira (14), describen que la aplicación de una sustancia medicamentosa intraconducto puede ser utilizada por los siguientes motivos: eliminar microorganismos que hayan sobrevivido a la preparación químico-mecánica, para actuar como barrera físico-química frente a filtración coronaria, reducir la inflamación perirradicular y los síntomas de los procedimientos, controlar el exudado de los tejidos, solubilizar tejido orgánico, inactivar productos microbianos, controlar procesos reabsortivos internos y/o externos y estimular la reparación por tejido mineralizado.

El uso de fármacos intraconductos está directamente relacionado con una mejor reparación de los tejidos perirradiculares y consecuentemente, con una

mayor tasa de éxito de la terapia endodóntica, al potenciar la acción antibacteriana (14).

Los factores que pueden influir en el tipo de medicamento a utilizar son: el diagnóstico y tipo de diente a tratar, variabilidad anatómica del sistema de conductos radiculares, composición del medicamento, el tamaño de la partícula, entre otros.

Se ha descrito que el sistema de conductos radiculares posee una amplia variabilidad anatómica, no solamente desde la disposición y número de conductos radiculares, sino que también en las características propias de los tejidos dentarios en los tres tercios radiculares. Harran Ponce et al. (15) describe que la densidad numérica de los túbulos dentinarios disminuye hacia el tercio apical de la raíz, a razón de 21.000, 15.000 y 13.000 túbulos por mm^2 en el tercio cervical, medio, y apical de la raíz respectivamente. Además, se describe que los túbulos dentinarios presentan, dependiendo del tercio radicular analizado, un diámetro promedio que varía entre 2,0 a 3,2 μm (16,17), disminuyendo progresivamente su diámetro desde la zona interna del conducto hacia la superficie radicular externa (18). Tanto el diámetro de los túbulos dentinarios como el tamaño de partícula del compuesto antibacteriano son factores que influyen en la acción del medicamento.

En base a lo anterior, Wang Y et al. (19), demuestra que la profundidad de penetración de un cemento sellador, va disminuyendo desde la zona coronal hacia apical de la raíz debido a la disminución en el número y diámetro de los túbulos dentinarios.

A lo largo de los años, se han desarrollado múltiples materiales con el objetivo de una acción antimicrobiana, los que han modificado su composición entregándoles diferentes características.

- **Hidróxido de calcio**

El hidróxido de calcio (Ca_2OH) ha sido utilizado en endodoncia hace más de un siglo. La primera referencia del uso de este compuesto se atribuye a Nygren (1838) para el tratamiento de una fístula de origen odontogénica, mientras que Codman (1851) lo utilizó en biopulpectomías (20). Años más tarde, Hermann (1920) utilizó el Ca_2OH como material de recubrimiento pulpar, momento en el cual esta sustancia comenzó a ser investigada en profundidad. A partir de esto comenzó a ser comercializado como una pasta llamada Calxyl (Otto & Co; Frankfurt, Alemania). En 1975, se empezó a utilizar Ca_2OH como apósito en dientes con necrosis pulpar. Sin embargo, su uso aumentó después de que Byström et al. (21) (1985) demostraran que esta sustancia proporcionaba resultados clínicos superiores a los observados con los compuestos fenólicos, especialmente con el paramonoclorofenol alcanforado (14,22).

El hidróxido de calcio es un polvo blanco, altamente alcalino (pH 12,8), escasamente soluble en agua. Actualmente es utilizado ampliamente en endodoncia a nivel global como medicamento intraconducto, para el manejo de microorganismos, reabsorciones radiculares y apexificaciones, entre otros (4,9,22).

Su mecanismo de acción ocurre principalmente por la liberación de iones hidroxilo y calcio, los difunden a través de los túbulos dentinarios, incluso en presencia de tejido orgánico (23), alcanzando una profundidad de hasta $150\mu\text{m}$. Esta profundidad de penetración puede resultar insuficiente al considerar que

ciertos microorganismos pueden penetrar hasta 300µm en los túbulos dentinarios (2,12).

Dentro de las características de este compuesto, se encuentran:

- Efecto inicialmente bactericida.
- Efecto antiinflamatorio.
- Disolución de tejido orgánico.
- Promueve la reparación del tejido mineralizado.
- Detiene los procesos de reabsorción radicular interna y externa.
- Estimulación de fibroblastos (pH alcalino).
- Neutraliza los subproductos bacterianos.
- Económico y fácil de usar.

Este Ca_2OH tiene dos presentaciones clínicas: en polvo, donde el material debe asociarse con otra sustancia para permitir llevarlo al sistema de conductos radiculares. Idealmente, los vehículos deberían permitir la disociación iónica del hidróxido de calcio y así mismo su difusión por la estructura dentaria (14). Ejemplos de vehículos para el hidróxido de calcio se describen el suero, agua destilada, propilenglicol, entre otros.

La otra presentación es en fórmula premezclada, en donde el hidróxido de calcio es presentado en jeringas listo para ser inyectado al interior de los conductos radiculares con puntas aplicadoras. Entre estos encontramos el Ultracal XS (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, USA).

El Ultracal XS se utiliza como agente antimicrobiano entre sesiones y según el fabricante consta de menos del 35% de Ca_2OH , menos del 20% de sulfato de bario (BaSO_4), menos del 5% de propilenglicol y agua (24).

Un factor fundamental en la difusión del medicamento a través de los túbulos dentinarios es su tamaño de partícula. Komabayashi et al. el 2014 (24), reportó que Ultracal XS, está compuesto por partículas irregulares y que su tamaño varía entre los 0.5 y 2.5 μm , pudiendo limitar el alcance de microorganismos en el interior de los túbulos dentinarios.

- **Materiales en base a silicato de calcio**

Los materiales en base a silicato de calcio, más comúnmente llamados biocerámicos, son materiales desarrollados específicamente para uso médico y odontológico. El desarrollo de estos materiales comenzó durante las décadas de 1960 y 1970, siendo utilizados en traumatología para el reemplazo de articulaciones, como placas óseas y cemento óseo. Se caracterizan por ser biocompatibles, inorgánicos y no metálicos, e incluyen en su composición alúmina, zirconia, vidrio bioactivo, revestimientos y compuestos, hidroxiapatita y fosfatos de calcio reabsorbibles. Son químicamente estables, no corrosivos e interactúan con los tejidos orgánicos (25).

El uso de materiales biocerámicos en endodoncia se ha masificado en los últimos años. Sus propiedades bioactivas, antibacterianas, estabilidad dimensional, baja solubilidad y pequeño tamaño de partícula hacen que sean considerados como un material de elección para solucionar un importante número de problemas en endodoncia (2).

Actuales éstos materiales pueden ser divididos en dos grandes grupos: los cementos selladores, de consistencia fluída, desarrollados para su uso asociado a gutapercha para la obturación de los conductos radiculares y los reparadores, que son utilizado para la resolución de perforaciones y como material de

retroobtención radicular. Algunos se presentan como polvo/líquido y requieren un proceso de mezcla manual mientras que otros son premezclados y listos para su uso. Los cementos biocerámicos premezclados, tienen una consistencia uniforme y son hidrófilos, requiriendo humedad de los tejidos para fraguar. Además, no son sensibles a la contaminación sanguínea y por tanto, son muy poco sensibles a la técnica.

Respecto a sus características físico-mecánicas, se caracterizan por ser materiales dimensionalmente estables, que presentan una ligera expansión de fraguado y cuando endurecen, tienen baja solubilidad en el tiempo, garantizando un óptimo sellado a largo plazo. Al momento de fraguar, estos cementos presentan un pH superior a 12 ya que, producto de la reacción de hidratación, forma en primera instancia hidróxido de calcio, para luego disociarse en iones calcio e hidroxilo, lo que le otorga importantes propiedades antibacterianas. Cuando completan su fraguado, estos materiales son biocompatibles y bioactivos, ya que, cuando entran en contacto con los fluidos tisulares liberan hidróxido de calcio que interactúa con los fosfatos en los fluidos tisulares para formar hidroxiapatita, lo que explica las propiedades inductoras de la reparación de estos biomateriales (25).

Por las características descritas anteriormente, estos materiales se recomiendan para el recubrimiento pulpar, pulpotomía, reparación de perforaciones, obturación retrógrada y obturación de conductos, tanto en dientes inmaduros con ápices abiertos como en conductos de dientes con ápices cerrados.

Estas favorables propiedades han significado que los fabricantes indaguen en otras aplicaciones para estos materiales y durante los últimos años se ha empezado a incursionar en su uso como medicación intraconducto. El Bio-C Temp® (Angelus, Londrina, Brasil) es el primer material en base a silicato de calcio para su uso como medicación entre sesiones. Se caracteriza por poseer una forma regular y tamaño pequeño de partícula, menor a 2 μm , lo que permitiría mayor difusión del material en los túbulos dentinarios (26), sumado a sus grandes propiedades antibacterianas con un pH cercano a 12 (27,28), permitiendo suplir las falencias que presenta el hidróxido de calcio respecto a su profundidad de acción. Dentro de los componentes de este material se encuentran: silicato tricálcico (C_3S), silicato dicálcico (C_2S), aluminato tricálcico, óxido de calcio, base de resina, tungstato de calcio, Polietilenglicol y óxido de titanio (29).

III. PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La profundidad que pueden alcanzar los microorganismos en los túbulos dentinarios y la persistencia de especies resistentes como *Enterococcus Faecalis* y *Fusobacterium Nucleatum* pueden significar el fracaso del tratamiento endodóntico. El hidróxido de calcio al ser utilizado como medicación entre sesiones puede no ser suficiente para eliminar los microorganismos alojados en la profundidad de los túbulos dentinarios. Considerando las características descritas por el fabricante del Bio-C Temp, en especial su forma y tamaño de partícula, surge la hipótesis de que este material podría presentar una mayor penetración tubular respecto a Ultracal XS. Es por esto que, durante la etapa de medicación intraconducto **¿La utilización de Bio-C Temp presentará una mayor penetración en comparación al Ultracal XS en el tercio apical y**

medio del conducto radicular de premolares extraídos por indicación ortodóncica?

Hipótesis Nula:

La profundidad máxima y área de penetración tubular de Bio-C Temp es igual o menor a la de Ultracal XS.

IV. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

1. Objetivo General: Evaluar la penetración tubular de Bio-C Temp mediante microscopía confocal láser y compararlo con Ultracal XS.

2. Objetivos Específicos:

- Determinar la profundidad máxima de penetración tubular de Bio-C Temp y Ultracal XS en el tercio medio y apical.
- Determinar el área de penetración tubular de Bio-C Temp y Ultracal XS en el tercio medio y apical.
- Determinar el porcentaje de penetración tubular de Bio-C Temp y Ultracal XS en el tercio medio y apical.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

- **Tipo y diseño de estudio:**

Estudio experimental, in vitro.

- **Población en estudio:**

Premolares superiores e inferiores humanos extraídos en diferentes servicios de salud de la V región de Chile durante los años 2020-2021 que cumplan con los criterios de inclusión.

- **Muestreo:**

Cálculo de tamaño muestral

Para este estudio experimental in vitro se utilizará una muestra no probabilística, basada en estudios de similar metodología publicados en la literatura (7,30,31).

Selección de la muestra

Para este estudio se utilizarán 20 premolares unirradiculares con raíces rectas y ápices completamente formados, se dividirán en 2 grupos experimentales (n=10). Con el fin de calibrar y estandarizar los procedimientos se prepararán 5 muestras como estudio piloto.

- **Criterios de Inclusión y exclusión:**

Criterios de inclusión:

1. Premolares con raíces rectas.
2. Dientes que correspondan a material de desecho biológico.
3. Raíces indemnes con formación radicular completa.

4. Conducto único y rectos.
5. Conservados en suero fisiológico inmediatamente posterior a su extracción (máximo 6 meses).
6. Diámetro apical inicial mayor a 0.20 mm.

Criterios de exclusión:

1. Dientes que presenten reabsorción radicular
2. Conductos que presenten calcificación interna.
3. Diámetro apical inicial mayor a 0.30 mm.

- **Variables:**

VARIABLE	DEFINICIÓN	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	CATEGORÍA DE RESPUESTA	UNIDAD DE VARIABLE
Porcentaje de penetración tubular	Porcentaje del perímetro del conducto en el cual se observa penetración	Microscopía confocal láser: Imagen microscópica.	Cuantitativa, porcentaje.	Porcentaje (%)
Profundidad máxima de penetración	Profundidad máxima alcanzada por el medicamento desde un punto de la pared interna del conducto radicular hasta el punto de máxima penetración hacia la superficie radicular externa.	Microscopía confocal láser: Imagen microscópica.	Cuantitativa, continua de razón	Micrómetros (μm)
Área de penetración tubular	Superficie alcanzada por el medicamento de manera transversal.	Microscopía confocal láser: Imagen microscópica.	Cuantitativa, continua de razón	Micrómetros al cuadrado (μm^2)

- **Estandarización de los procedimientos:**

- 1. Recolección de Muestras.**

Las muestras recolectadas fueron almacenadas en solución salina hasta que se realizó la instrumentación de los conductos.

- 2. Desbridaje y limpieza de la muestra.**

Mediante ultrasonido y escobillas de profilaxis, se eliminaron restos de tejidos duro y/o blando adheridos a las raíz de los dientes.

- 3. Tomografía de estudio.**

El análisis del cumplimiento de los criterios de inclusión respecto a la morfología de los conductos radiculares, se comprobó mediante la toma de una tomografía computarizada Cone Beam (CB-500, Gendex, Pensilvania, USA) simultáneo a todas las muestras montadas en una espuma Oasis® (Maxlife).

- 4. Preparación de la muestra**

- a. Se eliminaron las coronas clínicas a través de un corte transversal a 14 mm desde el ápice, usando un disco diamantado montado en pieza de mano, buscando obtener una referencia plana para eliminar interferencias durante la preparación y estandarizar las muestras (Fig. 1-A).

- b. Se montaron las muestras en cilindros de acrílico transparente (Fig. 1-B).

- 5. Preparación biomecánica de los conductos radiculares:**

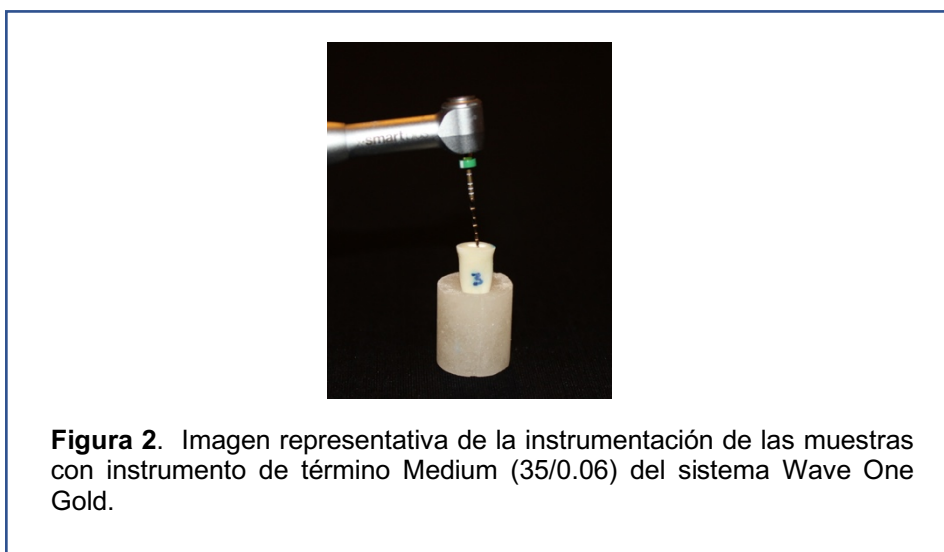
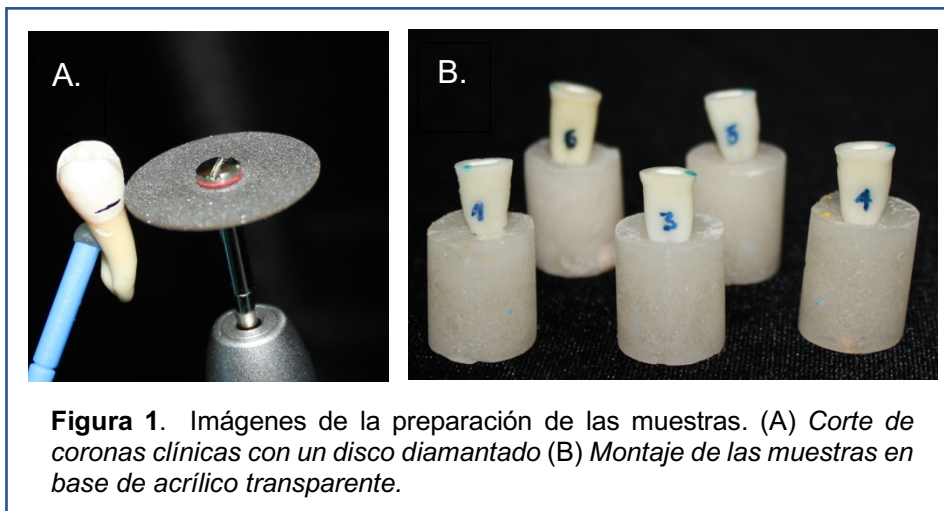
- a. La longitud de trabajo (LT) se realizó a 13mm considerando la estandarización de las muestras en 14mm.

- b. Se permeabilizaron los conductos con una lima K tamaño 10 (Sybronendo, Kerr) a 14mm y la preparación biomecánica de los conductos se realizó con el

sistema WaveOne Gold (Dentsply Sirona, Ballaigues, Suiza) utilizando como lima de término un instrumento Medium (35/0.06) a 13 mm utilizando con un motor endodóntico X-SMART Plus (Dentsply Sirona) con el programa reciprocante Wave One Gold (Fig. 2).

c. Durante toda la preparación biomecánica se utilizaron 20 ml de NaOCl 2.5% y como protocolo de irrigación final se utilizaron 5 ml de EDTA 17%, seguido de 5 ml NaOCl 2.5%, finalizando con 5ml de agua destilada.

d. El secado de los conductos radiculares se realizó con conos de papel #35 del sistema Wave One Gold.



6. Asignación de grupos

Se realizó un muestreo aleatorio simple en una planilla Excel (Microsoft office 2016, Seattle, WA, EEUU) para determinar los 2 grupos de trabajo: grupo A (n = 10) Bio-c Temp (Angelus, Brasil) y grupo B (n = 10) Ultracal XS (Ultradent, EE.UU).

Las muestras fueron identificadas, en la base acrílica, con el número de la muestra y una letra según al grupo que pertenecía.

7. Protocolo de mezcla de medicamentos.

Para evidenciar la penetración del medicamento en las imágenes del microscopio confocal láser, fue necesario mezclar los medicamentos respectivos con Fluo-3 (Thermo Fisher Scientific, USA) en una concentración de 0,1% del peso del material en el que se incorporó.

8. Protocolo de medicación.

El posicionamiento del medicamento intraconducto se ejecutó por un solo operador y se respetó el protocolo recomendado por fabricante:

a. Protocolo Bio-C Temp:

La inserción de la punta aplicadora fue lo más próximo al ápice radicular, donde se aplicó el medicamento realizando una retracción gradual para obtener un completo llenado del conducto.

b. Protocolo Ultracal XS:

Se posicionó la aguja de aplicación NaviTip, la que se introdujo hasta llegar a 2 mm del ápice radicular y se aplicó el material

realizando retracción lenta y procurando que la punta no contacte con las paredes del canal radicular.

9. Obturación temporal

Cada muestra se selló mediante cemento ionómero de vidrio Ketac Molar (3M ESPE, Neuss, Alemania) en la entrada del conducto.

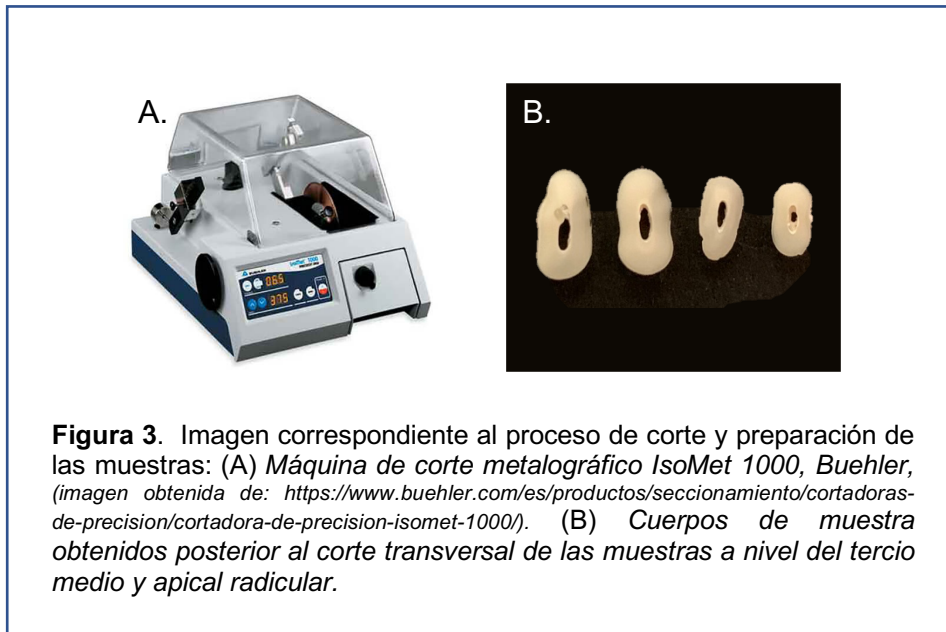
10. Incubación

Las muestras fueron almacenadas en incubadora LT 100 AMILAB (Santiago, Chile) por 7 días a 37 grados Celsius en un ambiente húmedo para simular las condiciones orales.

11. Cortes y preparación de muestra

Posterior a la incubación, las muestras fueron seccionadas transversalmente mediante cortes con una máquina de corte metalográfico IsoMet 1000 (Buehler, Lake Bluff, IL, EE. UU.) (Fig.3) y un disco de diamante de hoja de 4" (EXTEC Corp, Enfield, CT, EE.UU.) a 3 y 6 mm desde el ápice, obteniendo 2 cuerpos de muestras de 1 mm de grosor correspondientes al tercio apical y medio.

Estos cortes fueron transportados a un portaobjetos para ser analizados en microscopio confocal láser.



12. Evaluación mediante microscopía confocal láser

Los cuerpos de muestras fueron analizados bajo microscopio confocal láser D-eclipse C1 (Nikon, Tokio, Japón) utilizando una magnificación de 10x. Las imágenes obtenidas se analizaron con el software Image J (Rasband, W.S., U.S. NIH, Maryland, USA) donde se determinó el porcentaje, profundidad máxima y área total de penetración (Fig. 4).

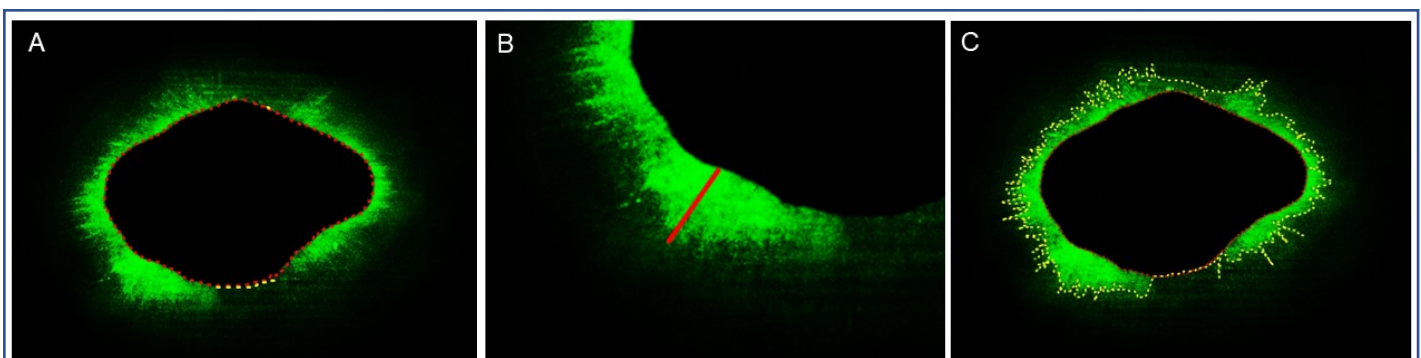


Figura 4. Imágenes representativas para la medición de variables. (A) *Porcentaje de penetración tubular:* Perímetro total del conducto delimitado (rojo) y zonas donde no se observa penetración tubular del medicamento (amarillo). (B) *Penetración tubular máxima:* Línea recta que muestra la profundidad máxima de penetración alcanzada por el medicamento. (C) *Área total de penetración:* Delimitación del área total de penetración del medicamento.

13. Análisis de resultados.

Se utilizó test de Student para todos los análisis estadísticos. Los valores obtenidos fueron tabulados y analizados con el programa GraphPad Prism versión 9.0.2 (GraphPad Software, California, USA)

VI. RESULTADOS

Profundidad máxima de penetración tubular:

Si bien el Bio-C Temp muestra índices mayores de profundidad máxima alcanzada, respecto a Ultracal XS, tanto en el tercio medio como en el apical, éstas diferencias no son significativas (Fig. 5 y 6).

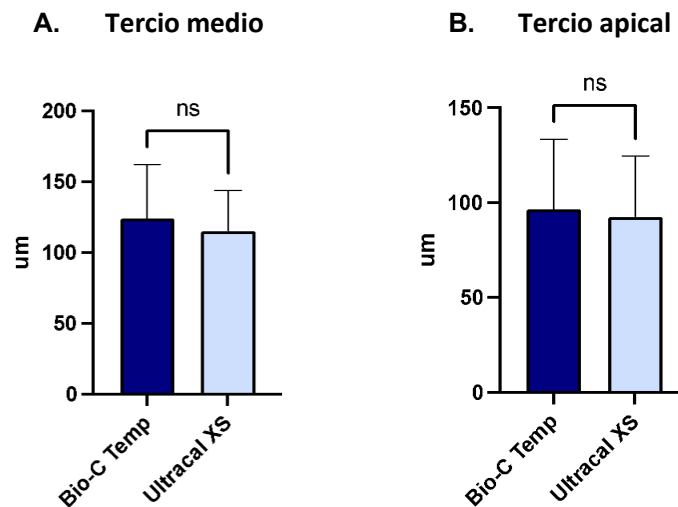


Figura 5: Gráfico del resultado de la profundidad máxima de penetración de Bio-C Temp v/s Ultracal XS en tercio medio (A) y tercio apical (B). No se observan diferencias significativas.

ns: sin diferencias.

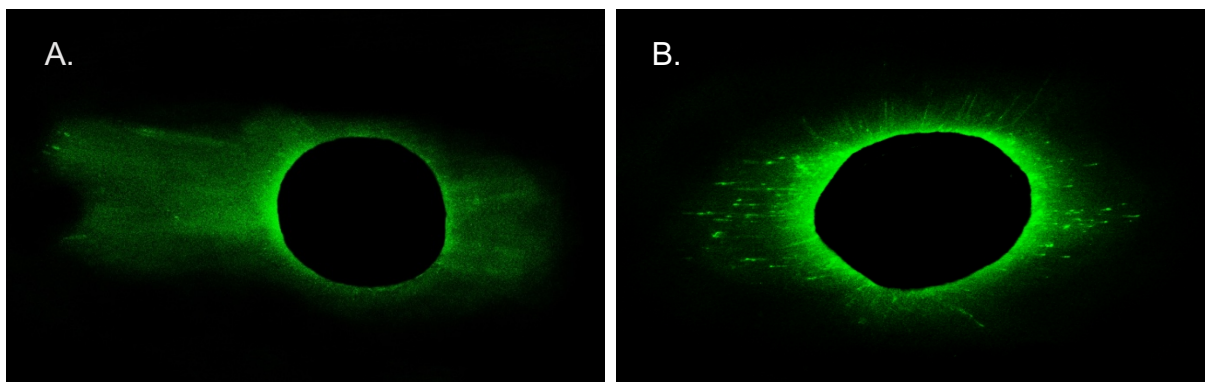


Figura 6: Imágenes del tercio apical mostrando la profundidad máxima de penetración tubular alcanzada por (A) *Bio-C Temp* y (B) *Ultracal XS*.

Área de penetración tubular:

Por último, en cuanto al área de penetración de los materiales de medicación intraconducto, Bio-C Temp nuevamente muestra mayores valores que Ultracal XS en el tercio medio y apical. Diferencias que no son significativas (Fig. 7 y 8).

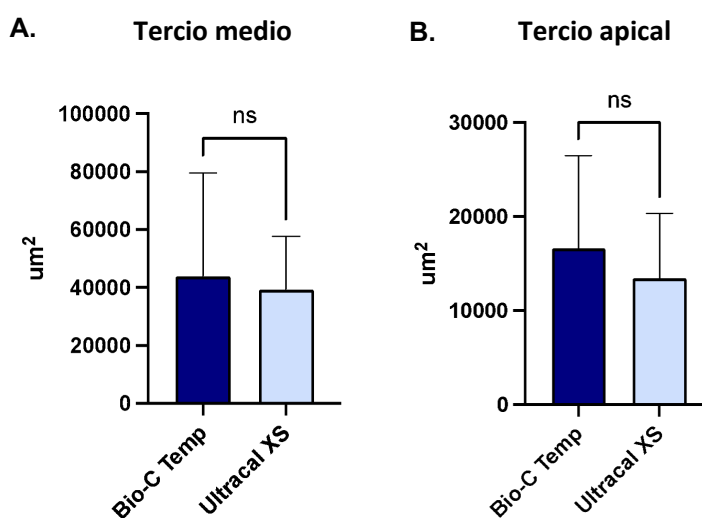


Figura 7: Gráfico del resultado del área de penetración tubular de Bio-C Temp v/s Ultracal XS en Tercio medio (A) y Tercio apical (B). No hay diferencias significativas.

ns: sin diferencias.

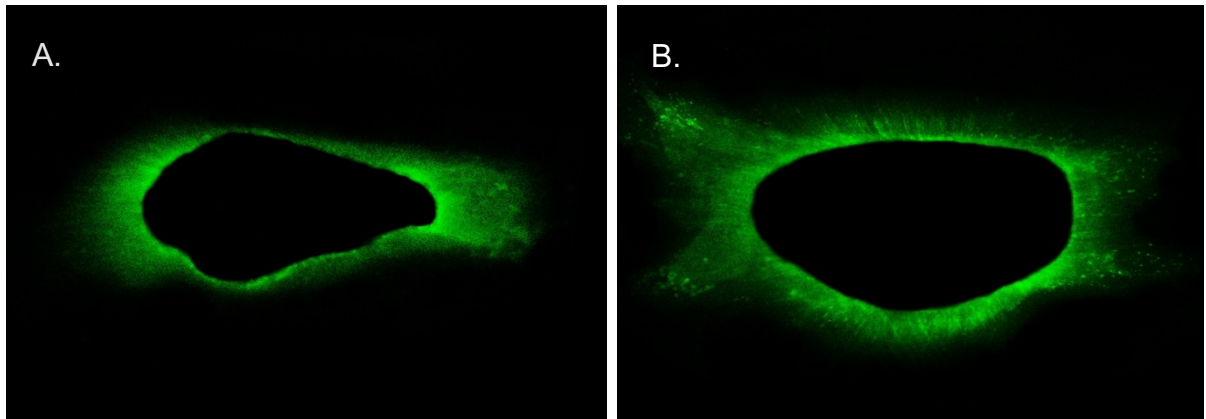


Figura 8: Imágenes del tercio medio mostrando el área de penetración tubular alcanzada por (A) *Bio-C Temp* y (B) *Ultracal XS*.

Porcentaje de penetración tubular:

Respecto a la penetración de los medicamentos, desde el conducto radicular principal hacia los túbulos dentinarios, se obtuvo como resultado que no existen diferencias de penetración entre Ultracal XS y Bio-C Temp tanto en tercio medio como apical (Fig. 9 y 10).

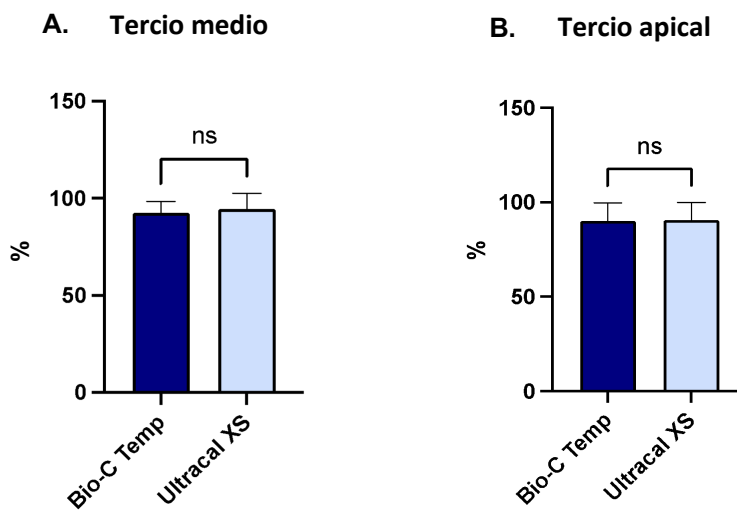


Figura 9: Gráfico del resultado del porcentaje de penetración tubular de Bio-C Temp v/s Ultracal XS en Tercio medio (A) y Tercio apical (B). Se puede observar que no hay diferencias significativas en ninguno de los dos tercios.

ns: sin diferencias.

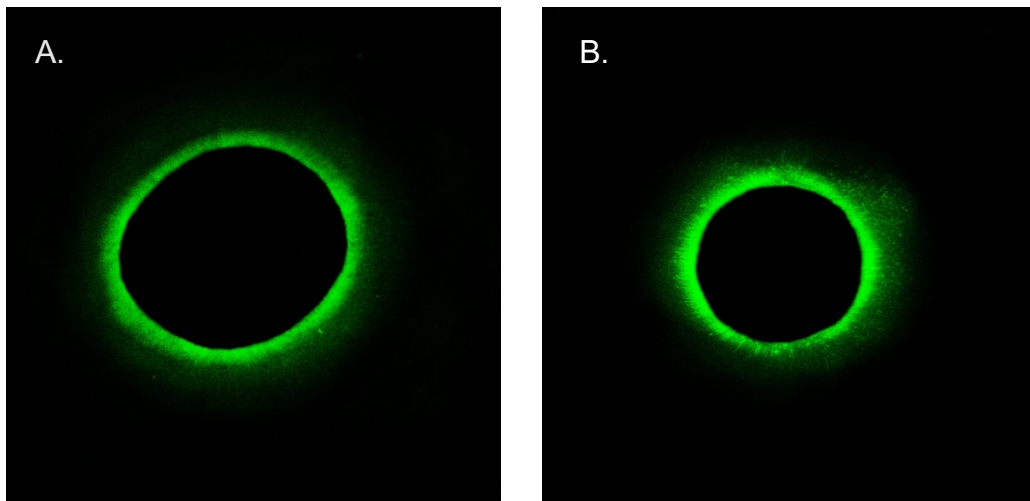


Figura 10: Imágenes del tercio medio mostrando el porcentaje de penetración tubular alcanzada por (A) *Bio-C Temp* y (B) *Ultracal XS*.

VII. DISCUSIÓN

Durante muchos años, la Rodamina B ha sido el marcador de preferencia para analizar la penetración tubular de diferentes materiales y sustancias en endodoncia (32). Sin embargo, estudios actuales de penetración tubular en los que se utiliza Flúo-3 como fluoróforo, muestran valores significativamente menores en comparación con aquellos con Rodamina B, ya que la naturaleza hidrofílica de ésta última, podría interferir en la interpretación de los datos, obteniendo resultados falsos positivos en términos de penetración (32,33).

Por lo anterior, en este estudio se utilizó Flúo-3 como marcador, que tiene como propiedad detectar gradientes de iones de calcio intracelulares (34), por lo tanto, los resultados consisten únicamente en la fijación de iones calcio del material biocerámico (33,35).

El porcentaje de penetración tubular muestra la distribución del medicamento en la periferia del conducto. Los altos porcentajes de penetración obtenidos en el estudio, reflejan una distribución homogénea de los medicamentos, lo que se traduce en un alto contacto con las paredes del

conducto radicular, permitiendo aumentar el potencial de desinfección de los conductos y con esto favorecer el pronóstico del tratamiento (36). En el estudio se observó que Bio-C Temp y UltraCal XS no presentaron diferencias significativas en el porcentaje de penetración tubular, en el tercio medio como apical, por lo que se confirma la hipótesis nula. Ésto puede ser explicado, en parte, por la anatomía endodóntica de las muestras utilizadas. El uso de premolares extraídos por indicación ortodóncica, implica una alta probabilidad de contar con conductos amplios y ovales (37), lo que simplifica la inyección de medicamentos al interior de los conductos, exponiendo las paredes del conducto de forma simple y directa a los medicamentos, con mínimas interferencias anatómica. Es por esto, que la muestra seleccionada para el presente estudio, elimina de forma considerable la variable anatómica interna, enfocándose principalmente en conductos únicos, a fin de no interferir la lectura de penetración tubular.

Respecto a la profundidad máxima de penetración y área de penetración tampoco se observaron diferencias significativas, esto puede ser asociado también a la anatomía descrita anteriormente. Ya que, al inyectar el medicamento con la cánula intraconducto, según las indicaciones del fabricante, se observó que el material refluyó con facilidad, desde apical hacia coronal, por lo que hace pensar que es muy poco o nada lo que penetra en los túbulos dentinarios. Donnermeyer et al. (32) postula que para introducir una pasta relativamente viscosa en los túbulos dentinarios, se debe aplicar una alta presión, la que no se obtiene inyectándolo de manera pasiva.

Por otra parte, el tamaño y forma de partícula, el vehículo y el diámetro de los túbulos dentinarios son factores que deben ser analizados en conjunto al

momento de evaluar la distribución de los medicamentos tanto en la periferia del conducto radicular, como en la profundidad de los túbulos dentinarios (38). Desde el punto de vista del tamaño y forma de la partícula, las diferencias descritas por los fabricantes entre Bio-C Temp y Ultracal XS, parecen no ser relevantes, ya que no existió diferencias significativas en el área de penetración, ni profundidad máxima de penetración.

Diferentes variables, como las propiedades fisicoquímicas de los materiales, la anatomía del diente y la presencia de barro dentinario, pueden tener un efecto sobre la penetración de los medicamentos en los túbulos (9). Por lo anterior, durante la fase experimental, se utilizó NaOCl al 2,5 %, seguido por EDTA al 17 %, los que se activaron mediante ultrasonido para una mejor limpieza. Adicionalmente, se debe considerar, que el tercio apical presenta una dentina más esclerótica, lo que significa una mayor dificultad para el suministro de irrigantes y la eliminación del barro dentinario (36), lo que tiene un efecto directo en la penetración tubular de un material posteriormente.

Es necesario precisar que la acción antibacteriana de estos medicamentos no está determinada exclusivamente por la penetración tubular y/o contacto directo con microorganismos, sino también por la difusión de iones calcio e hidroxilo una vez disociados (9). Considerando que la activación ultrasónica del hidróxido de calcio ha mostrado favorables resultados respecto al aumento del pH y la liberación de calcio (39), futuros estudios complementarios serían de utilidad para generar conclusiones respecto a las propiedades de Bio-C Temp.

VIII. CONCLUSIÓN

Se determinó que Bio-C Temp no presentó diferencias significativas de profundidad máxima de penetración tubular, al compararlo con Ultracal XS.

Se determinó que no hay diferencias significativas en el área de penetración tubular, al comparar Bio-C Temp con Ultracal XS.

Se determinó que Bio-C Temp no presentó diferencias significativas en el porcentaje de penetración tubular, al compararlo con Ultracal XS.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hargreaves KM, Cohen S, Berman LH, editors. Cohen's pathways of the pulp. 10th ed. St. Louis, Mo: Mosby Elsevier; 2011. 952 p.
2. Funk B, Sahar-Helft S, Kirmayer D, Friedman M, Steinberg D. Sustained-Release Fillers for Dentin Disinfection: An Ex Vivo Study. *Int J Dent*. 2019 May 22;2019:1–9.
3. Vera J, Siqueira JF, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, et al. One-versus Two-visit Endodontic Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Histobacteriologic Study. *J Endod*. 2012 Aug;38(8):1040–52.
4. Kumar A, Tamanna S, Iftekhar H. Intracanal medicaments – Their use in modern endodontics: A narrative review. *J Oral Res Rev*. 2019;11(2):94.
5. Krithikadatta J, Indira R, Dorothykalyani AL. Disinfection of Dentinal Tubules with 2% Chlorhexidine, 2% Metronidazole, Bioactive Glass when Compared with Calcium Hydroxide as Intracanal Medicaments. *J Endod*. 2007 Dec;33(12):1473–6.
6. Peters OA, Schönenberger K, Laib A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography: Canal preparation assessed by micro-CT. *Int Endod J*. 2001 Apr;34(3):221–30.
7. Vadhana S, Latha J, Velmurugan N. Evaluation of penetration depth of 2% chlorhexidine digluconate into root dentinal tubules using confocal laser scanning microscope. *Restor Dent Endod*. 2015;40(2):149.
8. Kreisler M, Kohnen W, Beck M, Al Haj H, Christoffers AB, Götz H, et al. Efficacy of NaOCl/H₂O₂ irrigation and GaAlAs laser in decontamination of root canals in vitro: EFFICACY OF NaOCl/H₂O₂ IRRIGATION. *Lasers Surg Med*. 2003 Mar;32(3):189–96.
9. de Almeida Barbosa M, de Oliveira KV, dos Santos VR, da Silva WJ, Tomazinho FSF, Baratto-Filho F, et al. Effect of Vehicle and Agitation Methods on the Penetration of Calcium Hydroxide Paste in the Dentinal Tubules. *J Endod*. 2020 Jul;46(7):980–6.
10. Arias MPC, Maliza AGA, Midená RZ, Graeff MSZ, Duarte MAH, Andrade FB de, et al. Effect of ultrasonic streaming on intra-dentinal disinfection and penetration of calcium hydroxide paste in endodontic treatment. *J Appl Oral*

- Sci. 2016 Dec;24(6):575–81.
11. Ferreira NS, Martinho FC, Cardoso FGR, Nascimento GG, Carvalho CAT, Valera MC. Microbiological Profile Resistant to Different Intracanal Medications in Primary Endodontic Infections. *J Endod.* 2015 Jun;41(6):824–30.
 12. Siqueira JF, Rôças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2002 Feb;93(2):174–8.
 13. Alrahman MSA, Faraj BM, Dizaye KF. Assessment of Nitrofurantoin as an Experimental Intracanal Medicament in Endodontics. *BioMed Res Int.* 2020 Feb 18;2020:1–13.
 14. Lopes H, Siqueira J. *Endodontia: Biologia e Técnica.* 4ª Edição. :1802.
 15. Ponce EH, Sahli CC, Fernandez JAV. Study Of Dentinal Tubule Architecture Of Permanent Upper Premolars: Evaluation By SEM. *Aust Endod J.* 2001 Aug;27(2):66–72.
 16. Bird DC, Komabayashi T, Guo L, Opperman LA, Spears R. In Vitro Evaluation of Dentinal Tubule Penetration and Biomineralization Ability of a New Root-end Filling Material. *J Endod.* 2012 Aug;38(8):1093–6.
 17. Versiani MA, Basrani B, Sousa-Neto MD, editors. *The Root Canal Anatomy in Permanent Dentition [Internet].* Cham: Springer International Publishing; 2019 [cited 2022 Dec 8]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-73444-6>
 18. Newman M CA. *Periodontic Lesions: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment Considerations.* 13th ed. Elsevier; 2018.
 19. Wang Y, Liu S, Dong Y. In vitro study of dentinal tubule penetration and filling quality of bioceramic sealer. Bencharit S, editor. *PLOS ONE.* 2018 Feb 1;13(2):e0192248.
 20. Fava LRG, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J.* 1999 Jul;32(4):257–82.
 21. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Dent Traumatol.* 1985 Oct;1(5):170–5.
 22. Ba-Hattab R, Al-Jamie M, Aldreib H, Alessa L, Alonazi M. Calcium Hydroxide in Endodontics: An Overview. *Open J Stomatol.* 2016;06(12):274–89.
 23. Deniz Sungur D, Aksel H, Purali N. Effect of a Low Surface Tension Vehicle on the Dentinal Tubule Penetration of Calcium Hydroxide and Triple Antibiotic Paste. *J Endod.* 2017 Mar;43(3):452–5.
 24. Komabayashi T, Ahn C, Spears R, Zhu Q. Comparison of particle morphology between commercial- and research-grade calcium hydroxide in endodontics. *J Oral Sci.* 2014;56(3):195–9.
 25. Debelian G, Trope M. The use of premixed bioceramic materials in endodontics. *G Ital Endodonzia.* 2016 Nov;30(2):70–80.
 26. Utneja S, Nawal RR, Talwar S, Verma M. Current perspectives of bio-ceramic technology in endodontics: calcium enriched mixture cement - review of its composition, properties and applications. *Restor Dent Endod.* 2015;40(1):1.
 27. Bi J, Liu Y, Liu XM, Jiang LM, Chen X. iRoot FM exerts an antibacterial effect on *Porphyromonas endodontalis* and improves the properties of stem

- cells from the apical papilla. *Int Endod J.* 2018 Oct;51(10):1139–48.
28. Bukhari S, Karabucak B. The Antimicrobial Effect of Bioceramic Sealer on an 8-week Matured *Enterococcus faecalis* Biofilm Attached to Root Canal Dentinal Surface. *J Endod.* 2019 Aug;45(8):1047–52.
 29. Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A (2022) Bio-C Temp brochure. Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A. Retrieved from: <https://angelus.ind.br/assets/uploads/2022/06/Folder-BIO-C@-TEMP-Angelus-ES.pdf>. Last accessed on December 1 th, 2022.
 30. Heithersay GS. Calcium Hydroxide in the Treatment of Pulpless Teeth with Associated Pathology. *Int Endod J.* 1975 Jul;8(2):74–93.
 31. Gunes B, Yeter KY, Terlemez A, Seker B, Altay Y. Dentinal tubule penetration of endodontic sealers after nonthermal plasma treatment: A confocal laser scanning microscopy study. *Microsc Res Tech.* 2019 Jun;82(6):903–8.
 32. Donnermeyer D, Schmidt S, Rohrbach A, Berlandi J, Bürklein S, Schäfer E. Debunking the Concept of Dentinal Tubule Penetration of Endodontic Sealers: Sealer Staining with Rhodamine B Fluorescent Dye Is an Inadequate Method. *Materials.* 2021 Jun 10;14(12):3211.
 33. Coronas VS, Villa N, Nascimento AL do, Duarte PHM, Rosa RA da, Só MVR. Dentinal Tubule Penetration of a Calcium Silicate-Based Root Canal Sealer Using a Specific Calcium Fluorophore. *Braz Dent J.* 2020 Apr;31(2):109–15.
 34. Jeong JW, DeGraft-Johnson A, Dorn SO, Di Fiore PM. Dentinal Tubule Penetration of a Calcium Silicate-based Root Canal Sealer with Different Obturation Methods. *J Endod.* 2017 Apr;43(4):633–7.
 35. Villa N, Santos VVD, Costa UM da, Mendes AT, Duarte PHM, Rosa RA da, et al. A New Calcium Silicate-Based Root Canal Dressing: Physical and Chemical Properties, Cytotoxicity and Dentinal Tubule Penetration. *Braz Dent J.* 2020 Nov;31(6):598–604.
 36. Matos F de S, da Silva FR, Paranhos LR, Moura CCG, Bresciani E, Valera MC. The effect of 17% EDTA and QMiX ultrasonic activation on smear layer removal and sealer penetration: ex vivo study. *Sci Rep.* 2020 Jun 25;10(1):10311.
 37. Martins JNR, Ordinola-Zapata R, Marques D, Francisco H, Caramês J. Differences in root canal system configuration in human permanent teeth within different age groups. *Int Endod J.* 2018 Aug;51(8):931–41.
 38. Pereira TC, da Silva Munhoz Vasconcelos LR, Graeff MSZ, Ribeiro MCM, Duarte MAH, de Andrade FB. Intratubular decontamination ability and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes. *Clin Oral Investig.* 2019 Mar;23(3):1253–62.
 39. Duarte MAH, Balan NV, Zeferino MA, Vivan RR, Morais CAH, Tanomaru-Filho M, et al. Effect of Ultrasonic Activation on pH and Calcium Released by Calcium Hydroxide Pastes in Simulated External Root Resorption. *J Endod.* 2012 Jun;38(6):834–7.