



ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO

EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL CEMENTO PORTLAND CON Y SIN
NANOPARTÍCULAS DE PLATA COMPARADO CON EL MINERAL TRIÓXIDO
AGREGADO FRENTE A ENTEROCOCCUS FAECALIS Y CÁNDIDA ALBICANS

Línea de investigación:

Biomateriales

Tesis para optar el Grado Académico de Doctor en Odontología

Autor

Quea Cahuana, Eduardo

Asesor

Cayo Rojas, César Félix

(ORCID: 0000-0002-5560-7841)

Jurado:

Portal Bustamante, Neme

Sotomayor Mancicidor Oscar Vicente

Munayco Magallanes Américo Alejandro

Lima - Perú

2022

Referencia:

Quea, C. (2022). *Eficacia antimicrobiana del cemento portland con y sin nanopartículas de plata comparado con el mineral trióxido agregado frente a enterococcus faecalis y candida albicans* [Tesis de doctorado en la Universidad Nacional Federico Villarreal]. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/6140>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO

**“EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL CEMENTO PORTLAND CON Y SIN
NANOPARTÍCULAS DE PLATA COMPARADO CON EL MINERAL TRIÓXIDO
AGREGADO FRENTE A *ENTEROCOCCUS FAECALIS* Y *CÁNDIDA ALBICANS*”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN ODONTOLOGÍA**

AUTOR:

QUEA CAHUANA EDUARDO

ASESOR:

DR. CAYO ROJAS CÉSAR FÉLIX

LIMA - PERÚ

2022

Título:

Eficacia antimicrobiana del cemento portland con y sin nanopartículas de plata comparado con el mineral trióxido agregado frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*

Autor:

Eduardo Quea Cahuana

Asesor:

Dr. César Félix Cayo Rojas

ÍNDICE

I.	Introducción	1
1.1	Planteamiento del problema	3
1.2	Descripción del problema	4
1.3	Formulación del Problema	6
	Problema General	6
	Problemas específicos	6
1.4	Antecedentes	7
1.5	Justificación de la investigación	11
1.6	Limitaciones de la investigación.....	12
1.7	Objetivos	13
	Objetivo general.....	13
	Objetivos específicos.....	13
1.8	Hipótesis.....	14
	Hipótesis general.....	14
	Hipótesis específicas	14
II.	MARCO TEÓRICO.....	15
2.1	Marco conceptual	15
2.1.1	Nanotecnología	16
	2.1.1.2 Aplicación de las nanopartículas en odontología.....	16
2.1.2	Microbiología endodóntica	17
	2.1.2.1 Enterococcus faecalis	18
	2.1.2.2 Cándida albicans.....	21
2.1.3	Cementos endodónticos a base de silicatos de calcio	24
	2.1.3.1 Propiedades físicas de los cementos a base de silicato de calcio.	26
	2.1.3.2 Cemento Portland (CP).....	28
	2.1.3.2.1 Actividad antimicrobiana del cemento Portland	32
	2.1.3.2.2 Estudios clínicos del cemento Portland	34
	2.1.3.3 Mineral trióxido agregado (MTA).....	35
	2.1.3.2.1 Propiedades antimicrobianas del MTA y sus derivados.....	36
	2.1.3.2.2 Usos clínicos del mineral trióxido agregado (MTA).....	41
2.1.4	Nanopartículas de plata	43
	2.1.4.1 Actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata	44
	2.1.4.2 Aplicación de las nanopartículas de plata en endodoncia.....	46

III. Método.....	51
3.1 Tipo de investigación:.....	51
3.2 Población y muestra.....	51
3.2.1 Población.....	51
3.2.3 Muestra.....	52
3.3 Operacionalización de variables.....	53
3.4 Instrumentos.....	53
3.5 Procedimientos.....	54
3.5.1 Técnica.....	54
3.5.2 Cementos utilizados.....	54
3.5.3 Procedimientos para el manejo de las cepas microbianas.....	55
3.5.3.1 Reactivación y replicación.....	55
3.5.3.2 Identificación de microorganismos.....	56
3.5.4 Procedimientos para someter a prueba la capacidad antimicrobiana de los cementos de estudio.....	57
3.6 Análisis de datos.....	58
3.7 Consideraciones éticas.....	59
IV. Resultados.....	60
V. Discusión de resultados.....	68
VI. Conclusiones.....	72
VII. Recomendaciones.....	74
VIII. Referencias.....	75
IX. Anexos.....	90

Índice de tablas

Tabla 1.	60
Tabla 2.	61
Tabla 3.	62
Tabla 4.	62
Tabla 5.	63
Tabla 6.	63

Índice de figuras

Figura 1.	60
Figura 2.	61

Resumen

El Mineral trióxido Agregado (MTA) y el cemento Portland (CP) son cementos de obturación conductos que tienen una pobre actividad contra microorganismos. La finalidad de este estudio experimental *in vitro* fue evaluar la eficacia antimicrobiana de diferentes cementos a base de silicato de calcio: Cemento Portland sin nanopartículas de plata (CP), Cemento Portland con nanopartículas de plata (CP-Ag) y Mineral Trióxido Agregado frente a dos cepas de microorganismos: *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas. Se utilizó la técnica de difusión en agar. La capa base fue realizada con el Agar Müller-Hinton y la zona de inhibición microbiana alrededor de los materiales fue medida con un calibrador vernier digital. Se utilizó la prueba de ANOVA para grupos independientes y HSD de Tukey para comparar los cementos en cada uno de los tiempos evaluados. Los resultados indicaron que frente a *Enterococcus faecalis* a las 24 horas no hubo diferencias significativas entre el CP-Ag y el MTA ($p=0.481$); y que el CP-Ag tuvo mayor halo de inhibición significativo que el MTA tanto a las 48 como 72 horas ($p=0.000$; 0.002 respectivamente). Cuando los cementos fueron expuestos a la *Candida albicans* a las 24 horas el CP tuvo mayor actividad antifúngica que el CP-Ag ($p=0.000$). A las 48 y 72 horas el CP tuvo valores mayores estadísticamente significativos que CP-Ag ($p=0.000$; 0.046) y que el MTA ($p=0.000$; 0.008), no encontrándose diferencias entre el CP-Ag y el MTA ($p=0.658$; 0.747), respectivamente.

Se concluye que el CP-Ag presentó halos de inhibición significativamente mayores que el MTA a las 48 y 72 horas frente a *Enterococcus faecalis*, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre estos dos cementos frente a *Candida albicans*. En la mayoría de los casos, el CP presentó halos de inhibición significativamente más altos que el MTA, independientemente del microorganismo estudiado. Al comparar el CP con CP-Ag frente a ambos microorganismos de estudio, en la mayoría de los casos hubo diferencias

significativas alcanzando el CP un mayor halo de inhibición, a excepción de las 48 horas del grupo de *Enterococcus faecalis*, donde el mayor halo de inhibición fue generado por el PC-AG.

Palabras clave: Mineral Trióxido Agregado, cemento Portland, nanopartículas de plata, Enterococcus faecalis, Candida albicans, pruebas antimicrobianas de difusión en disco.

Abstract

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) and Portland Cement (PC) are canal filling cements that have limited antimicrobial activity. The purpose of this experimental in vitro study was to evaluate the antibacterial efficacy of different calcium silicate-based cements: Portland Cement without silver nanoparticles (PC), Portland Cement with silver nanoparticles (PC-Ag) and Mineral Trioxide Aggregate against two strains of microorganisms: *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* at 24, 48 and 72 hours. The agar diffusion technique was used. The base coat was made with Müller-Hinton Agar and the zone of microbial inhibition around the materials was measured with a digital vernier caliper. The ANOVA test for independent groups and Tukey's HSD were used to compare the cements at each of the evaluated times. The results indicated that against *Enterococcus faecalis* at 24 hours there were no significant differences between PC-Ag and MTA ($p = 0.481$); and that PC-Ag had a significant greater inhibition than MTA both at 48 and 72 hours ($p = 0.000$; 0.002 respectively). When the cements were exposed to *Candida albicans* at 24 hours, the PC had greater antifungal activity than the PC-Ag ($p = 0.000$). At 48 and 72 hours, PC had statistically significant higher values than PC-Ag ($p = 0.000$; 0.046) and than MTA ($p = 0.000$; 0.008), not finding differences between PC-Ag and MTA ($p = 0.658$; 0.747), respectively.

It is concluded that PC-Ag presented significantly higher inhibition measures than MTA at 48 and 72 hours against *Enterococcus faecalis*, however, there were no significant differences between these two cements against *Candida albicans*. In most cases, PC presented significantly higher inhibition measures than MTA, regardless of the microorganism studied. When comparing PC with PC-Ag against both study microorganisms, in most cases there were significant differences, with PC reaching a greater

zone of inhibition, with the exception of 48 hours in the *Enterococcus faecalis* group, where the highest measurement it was generated by the PC-AG.

Keywords: Mineral trioxide aggregate, portland cement, silver nanoparticles. Enterococcus faecalis, Candida albicans, Disk Diffusion Antimicrobial Tests

I. Introducción

El tratamiento del conducto radicular consiste en la aplicación secuencial de una serie de procedimientos que incluyen la eliminación, conformación, desinfección y obturación de la pulpa infectada a fin de contrarrestar dicha condición además de mantener y prevenir una recontaminación futura. (Ma et al., 2016; Cohen & Hargreaves, 2006)

Un cemento endodóntico ideal debe mantener un sellado hermético del sistema de conductos, ser compatible con los tejidos perirradiculares y de fácil manipulación, debe ser estable dimensionalmente y adherirse a los tejidos dentales, resistir a la desintegración y evitar la pigmentación, además de poseer propiedades óptimas de biocompatibilidad, radiopacidad y capacidades regenerativas del complejo dentinopulpar. (Parirokh & Torabinejad, 2010; Torabinejad, Higa, & Pitt, 1994). Adicional a ello, los cementos endodónticos deben poseer propiedades antimicrobianas que le permitan contrarrestar los efectos de las bacterias y hongos presentes en el sistema de conductos, los cuales, en muchos casos, son los responsables de los fracasos en endodoncia. (Kim, Kim, Lee & Shin, 2015; Khedmat, Aminipor, Pourhajibagher, & Bahador, 2018)

Los cementos a base de silicato de calcio han ganado espacio en el ámbito de la terapia endodóntica y restauradora debido a sus múltiples propiedades, entre las que destacan su capacidad bioactiva y regenerativa al estar en contacto con los tejidos dentarios. (Watson, Atmeh, Sajini, Cook & Festy, 2014). Dentro de ellos las marcas y tipos más conocidos son el Mineral Trióxido Agregado (MTA) - ProRoot® MTA , Biodentine® y TheraCal LC . El MTA fue desarrollado en la Universidad Loma Linda, Estados Unidos, y producida por Dentsply International, convirtiéndose el primer cemento de este tipo utilizado en odontología bajo el nombre ProRoot® MTA (Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN, USA) (Hosoya, et al., 2019), presenta un pH altamente alcalino, el cual le confiere

capacidades antimicrobianas, sin embargo, los reportes de la literatura científica sobre sus propiedades antibacterianas y antifúngicas son contradictorios (Parirokh & Torabinejad, 2010; Shin, 2017; Morgental, 2011 & Dalmia, 2018), siendo más comprometido su efecto antimicrobiano bajo condiciones de anaerobiosis (Khedmat, Aminipor, Pourhajibagher, Kharazifar M & Bahador, 2018). Es por ese motivo que diversas investigaciones buscan mejorar estas propiedades asociando a los cementos a base de silicato de calcio como el MTA con otros aditivos que le permitan mejorar sus propiedades. (Eskandarinezhad et al., 2017; Stowe, Sedgley, Stowe, & Fenno, 2004)

Aunque el MTA presenta una serie de propiedades favorables en los diversos procedimientos odontológicos, cuenta con algunas desventajas tales como su alto costo. En ese sentido, al ser el MTA un derivado del cemento Portland (CP) de tipo I, diversos autores han propuesto su reemplazo por este cemento, puesto que presentan componentes y propiedades muy similares como lo reporta la literatura científica disponible, tanto a nivel de pH, resistencia a la compresión, actividad antimicrobiana y 14 elementos químicos que los conforman (Oliveira et al., 2007; Camilleri, 2009; Asgary, 2009; Islam, 2006; Funteas, 2003). Siendo de este modo un sustituto viable en la terapia endodóntica y restaurativa.

Al ser el cemento portland un cemento a base de silicato de calcio y debido a la evidencia científica disponible, se requiere potenciar su efecto antibacteriano y antifúngico, los cuales pueden ser determinantes para el pronóstico del tratamiento.

Existe en la actualidad nuevas estrategias para el tratamiento y prevención de infecciones endodónticas entre las que figuran líneas de investigación relacionadas al uso de los nanomateriales, los cuales consisten en partículas sólidas con un diámetro de 1 a 100 nanómetros y cuya alta densidad de carga permite la interacción con la superficie bacteriana cargada negativamente, mejorando de este modo su actividad antimicrobiana. (Song & Ge, 2019; Bapat, 2018).

Dentro de la línea terapéutica de los productos nanoparticulados más utilizados con fines antimicrobianos resalta el uso de las nanopartículas de plata (AgNPs), los cuales al liberar iones de este metal provoca la internalización celular de estas partículas inhibiendo el crecimiento bacteriano. (Eskandarinezhad et al., 2017).

Debido a que diferentes materiales no mantienen su estabilidad antimicrobiana en el transcurso del tiempo y considerando además que el efecto antimicrobiano de los cementos a base de silicato de calcio está relacionado al tiempo que toma alcanzar el fraguado final del material (Torabinejad, 1995), es que se ha considerado necesario incluir el factor tiempo como un elemento interviniente a estudiar.

El presente estudio pretende contribuir a la creación de un producto a base del cemento portland (silicato de calcio) económicamente accesible con las mismas o mejores propiedades que los agentes convencionales como el MTA y con capacidades antimicrobianas mejoradas a través de la adición de nanopartículas de plata.

Es por las razones antes expuestas que esta investigación tuvo como objetivo determinar la eficacia antimicrobiana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* a las 24, 48 y 72 horas y se planteó como hipótesis nula que el cemento endodóntico Portland con y sin nanopartículas de plata no presentan diferencias significativas en la eficacia antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* en comparación con el Mineral Trióxido Agregado.

1.1 Planteamiento del problema

El éxito del tratamiento endodóntico se basa fundamentalmente en la aplicación de una serie de procedimientos destinados a neutralizar la presencia del variado ecosistema microbiano presente en el conducto infectado. Sin embargo, no todos los materiales de obturación endodóntico empleados como el Mineral Trióxido Agregado ni sus posibles sustitutos como

el cemento Portland presentan una comprobada efectividad antibacteriana y antifúngica, es por ello que se ha propuesto mejorar las propiedades de estos materiales a través del añadido de ciertos agentes nanoparticulados. Si bien la literatura existente sobre estos aditivos es aún escasa, sus resultados son alentadores en el propósito de la búsqueda del material de obturación endodóntico ideal. Frente a lo descrito se planteó el siguiente problema: ¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* a las 24, 48 y 72 horas?

1.2 Descripción del problema

Las enfermedades pulpares y periapicales presentan como agente etiológico causal a una serie de microorganismos, los cuales infectan el complejo sistema de conductos radiculares. El tratamiento endodóntico consiste en la eliminación de bacterias, hongos y otros agentes del conducto radicular, además de la prevención de una posible reinfección del mismo. (AlShwaimi et al., 2016)

Los fracasos endodónticos se deben principalmente a la infección periapical persistente, el cual ha sido asociado en mayor medida a la presencia del *Enterococcus faecalis* (Zhang, Du, & Peng, 2015), la prevalencia de esta bacteria varía en el rango de 24 a 77% y tiene como característica invadir los túbulos dentinarios profundos y presentar resistencia al tratamiento endodóntico. (AlShwaimi et al., 2016), sin embargo, este no es el único microorganismo presente; recientes investigaciones han confirmado una correlación e interacción entre el microbioma bacteriano y fúngico en los conductos radiculares infectados, el cual puede llegar a complicar el éxito del tratamiento endodóntico (Persoon et al., 2017), en ese sentido la *Cándida albicans* (*C. albicans*) es el microorganismo fúngico más prevalente en los dientes con infección endodóntica persistente, su frecuencia es variable llegando a alcanzar valores entre el 0.5-55% (Mergoni, Percudani, Lodi, Bertani, & Manfredi, 2018)

Los cementos de restauración de endodoncia a base de silicato de calcio cumplen con varias de las características consideradas ideales para un material de este tipo, entre ellos el Mineral Trióxido Agregado (MTA), el cual es utilizado actualmente en procedimientos de recubrimiento pulpar directo, reparación de perforaciones, obturación retrógrada, apexificación, pulpotomías, entre otros. (Duarte et al., 2018; Hosoya et al., 2019). Sin embargo, su efecto antibacteriano y antifúngico aún genera debate debido a los reportes científicos contradictorios (Parirokh, & Torabinejad, 2010; Khedmat et al., 2018). Otra de las desventajas descritas del MTA están relacionadas al tiempo de fraguado, cambios de coloración de la estructura dentaria y su difícil manejo (Hosoya et al., 2019) considerando además su alto costo, el cual limita su aplicación en diversos procedimientos endodónticos y restaurativos. En ese sentido, considerando que la matriz del MTA está compuesta por silicato de calcio, muy similar al del cemento Portland utilizado en la industria de la construcción, diversos autores han propuesto a este último como una posible alternativa al MTA, con resultados satisfactorios. (Oliveira, et al., 2007; Camilleri, 2009). No obstante, al ser el cemento Portland un material a base de silicato de calcio como el MTA, requiere el refuerzo de sus propiedades antimicrobianas. En ese sentido, y considerando la tendencia actual del uso de los nanomateriales en odontología se ha propuesto el empleo de las nanopartículas de plata en diversos procedimientos odontológicos. Este material presenta un tamaño que varía de 1 a 100 nm. Al ser materiales ultra pequeños presentan una mayor superficie y reactividad química; al tener una carga positiva reacciona con la superficie bacteriana cargada negativamente, lo que provoca un daño a la membrana ocasionando su permeabilidad con el consiguiente ingreso de las nanopartículas al citoplasma celular. (Shrestha & Kishen, 2016)

1.3 Formulación del Problema

Problema General

¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* a las 24, 48 y 72 horas?

Problemas específicos

1. ¿Cuál será la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente al *Enterococcus faecalis*?
2. ¿Cuál será la eficacia antifúngica del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente a la *Candida albicans*?
3. ¿Existirá diferencias en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis* tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado?
4. ¿Existirá diferencias en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis* entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado?
5. ¿Existirá diferencias en la eficacia antifúngica al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a la *Candida albicans* tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado?
6. ¿Existirá diferencias en la eficacia antifúngica al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a la *Candida albicans* entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado?

1.4 Antecedentes

Posterior a la comprobación de la similitud física del Mineral Trióxido Agregado - MTA con el cemento Portland a través del microanálisis de rayos x (Asgary, Parirokh, Eghbal & Brink, 2004), otros autores estudiaron la actividad antimicrobiana de diferentes materiales de relleno, como el cemento Portland blanco y gris, MTA - Angelus blanco y gris, y Pro Root MTA gris. contra diferentes microorganismos entre los que se encontraban el *Enterococcus faecalis* y la *Cándida albicans*. Para ello utilizaron el método de difusión en agar, los microorganismos fueron incubados a 37 grados °C durante 24 h, posteriormente se midieron las zonas de inhibición. Los resultados mostraron que todos los selladores endodónticos, basados en MTA y los cementos Portland evaluados poseían actividad antimicrobiana frente a los microorganismos estudiados. **(Tanomaru-Filho et al., 2007).**

Para medir la actividad antimicrobiana del mineral trióxido agregado (MTA), un nuevo cemento endodóntico y el cemento Portland se realizó un estudio contra cinco microorganismos diferentes, entre ellos el *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*, para ello se utilizó el método de difusión en agar. Las placas se incubaron a 37 °C durante 72 h. Luego se midieron las zonas de inhibición. Los resultados indicaron que todos los materiales mostraron actividad antimicrobiana contra las cepas analizadas, excepto *Enterococcus faecalis*, además se evidenció que la actividad antimicrobiana de los materiales aumentó con el tiempo y la concentración ($P < 0.05$). **(Hasan, Javidi, Naderinasab & Gharechahi, 2009)**

Debido a que los materiales de obturación endodóntica no cumplen con un sellado perfecto, es necesario que estos cuenten con propiedades que permitan contrarrestar los efectos de diversos microorganismos que puedan penetrar en la interfaz del material restaurador y el tejido dentario, es por ello que se evaluó en un estudio las propiedades antimicrobianas del

mineral trióxido agregado blanco Angelus (MTA) mezclado con nanopartículas de plata, para ello se utilizó la técnica de difusión en agar contra *Enterococcus faecalis*, *Cándida albicans* y otros microorganismos. Los resultados indicaron que para *E. faecalis*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*, la zona de inhibición microbiana del MTA mezclado con nanopartículas de plata fue significativamente mayor que la de MTA ($P = 0,000$). Se evidenció además que no hubo una diferencia significativa de ninguno de los cementos frente al *S. aureus*. **(Samiei et al., 2013).**

Otro estudio tuvo como objetivo evaluar las propiedades antimicrobianas de la adición de nanopartículas de plata al mineral trióxido agregado (MTA) y un cemento experimental contra cinco microorganismos en los que se incluyeron al *Enterococcus faecalis* y la *Candida albicans*, se evaluaron en una suspensión microbiana diversos microorganismos. Las colonias se contaron después de intervalos de 0, 24, 48, 72 y 96 horas de incubación a 35 °C. Los resultados mostraron que la combinación de nanopartículas de plata con los dos cementos dio como resultado actividades antimicrobianas significativamente más altas. **(Jonaidi-Jafari, Izadi, & Javidi, 2016)**

Otra investigación estudió los efectos de la carga de nanopartículas de plata en el cemento Portland a base de silicato de calcio. Para ello evaluó diversas propiedades en las que se consideraba el efecto antibacteriano a través de método de difusión en agar contra *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. Los resultados mostraron que la adición de nanopartículas de plata promovió la actividad antibacteriana y favoreció las propiedades biomecánicas de cemento Portland convirtiéndose en un biomaterial apto para la futura terapia clínica. **(Nam, 2017)**

Considerando que tanto el mineral trióxido agregado (MTA) y el cemento Portland (CP) son cementos constituidos a base de silicato de calcio con propiedades fisicoquímicas, mecánicas y biológicas similares y que la adición de óxido de circonio (ZrO₂) y nanopartículas de plata (NPAg) al cemento portland proporcionan radiopacidad y mejora en la actividad antibacteriana respectivamente. Se evaluó el efecto de los NPAg sobre las propiedades fisicoquímicas / mecánicas y la actividad antibacteriana del MTA blanco (MTAB) y el CP asociado con ZrO₂. Se evaluaron los siguientes materiales: MTAB; CP 70% + ZrO₂ 30%; MTAB + NPAg; y PC 70% + ZrO₂ 30% + NPAg. El estudio evaluó la radiopacidad, el tiempo de fraguado, el pH, la resistencia a la compresión, la solubilidad además de la actividad antibacteriana a través de una prueba de contacto directo en células planctónicas y biopelícula frente a *Enterococcus faecalis* inducido en dentina de raíz bovina durante 14 días a las 5 y 15 horas. Los datos se obtuvieron como unidades formadoras de colonia UFC. Los resultados respecto a la actividad antimicrobiana mostraron que la adición de nanopartículas de plata promovió un aumento en la actividad antibacteriana para los cementos de silicato de calcio y favoreció las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de los materiales. **(Vazquez-Garcia et al., 2016).**

En un reciente estudio se evaluó las nanopartículas de plata (NPAg) y nanopartículas de oro (NPAu) obtenidas mediante síntesis biológica y sus diversos efectos, entre ellos la capacidad antifúngica frente a *Cándida albicans* y otros tipos de especies, para ello se realizó una prueba de difusión en agar. Las placas fueron incubadas a 30 °C y luego de 24 horas se midieron las zonas de inhibición. Se evidenció que las nanopartículas de plata biosintetizadas podían inhibir el crecimiento de varias especies oportunistas de *Cándida* o *Cryptococcus* y eran altamente potente contra los filamentosos *Microsporium* y *Trichophyton dermatophytes*. Entre las especies probadas, solo *Cryptococcus neoformans* era susceptible tanto a NPAg

como a NPAu, además de que ninguno NPAg o NPAu mostraron toxicidad en los queratinocitos humanos. **(Rónavári et al., 2018)**

Algunas investigaciones han evaluado las propiedades de los materiales de silicato de calcio mineral trióxido agregado (MTA) y cemento Portland (CP) asociados con óxido de zirconio microparticulado (ZrO₂ micro), óxido de zirconio nanoparticulado (ZrO₂ nano), óxido de niobio microparticulado (Nb₂O₅ micro) y óxido de niobio nanoparticulado (Nb₂O₅ nano). Los materiales experimentales: CP blanco (CP), MTA-Angelus® (MTA), CP+ (ZrO₂ micro), CP+ (ZrO₂ nano), CP+ (Nb₂O₅ micro) y CP+ (Nb₂O₅ nano) se sometieron a evaluaciones de radiopacidad y pH; además, se analizaron la actividad antimicrobiana contra diferentes microorganismos entre los que se incluyeron al *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*. Los resultados mostraron que todos los materiales evidenciaron actividad antimicrobiana contra los microorganismos evaluados. **(Guerreiro et al., 2014)**

Se han realizado estudios in vitro que evalúan la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata para mejorar los efectos inhibitorios del mineral trióxido agregado (MTA). Para ello se utilizaron los métodos de difusión en agar y una prueba de inmersión de membrana, recientemente desarrollada. Se analizó la actividad frente a cuatro tipos de patógenos anaeróbicos encontrando que tanto las nanopartículas de plata como las nanopartículas de plata combinadas con el MTA inhibieron el crecimiento de las cuatro bacterias. El análisis de inmersión de membrana mostró consistentemente que las nanopartículas de plata mejoraban significativamente la actividad antimicrobiana. **(Bahador, Pourakbari, Bolhari & Hashemi, 2015)**

Un estudio reciente ha evaluado el incremento de la actividad antibacteriana de los selladores endodónticos que contienen quitosán y nanopartículas de plata frente al *Enterococcus faecalis*. Ambas nanopartículas se sintetizaron por métodos de reducción y gelificación iónica, respectivamente. Las nanopartículas se caracterizaron por dispersión dinámica de luz y análisis de dispersión de rayos X. La actividad bactericida se probó en monocapas en placas de agar y ensayos de superficie de membrana de colágeno contra *E. faecalis*. Los resultados mostraron que todos los materiales, simples o combinados, mostraron un incremento de la actividad antibacteriana, especialmente cuando se agregaron Chitosán, clorhexidina y la combinación de Chitosán-Clorhexidina. Concluyeron que los selladores endodónticos Tubliseal y AH plus combinados con nanopartículas son efectivos agentes antibacterianos en la terapia endodóntica. **(Loyola-Rodríguez et al., 2019)**

1.5 Justificación de la investigación

Los adelantos de la ciencia han posibilitado la aparición de nuevos materiales en odontología que favorecen el éxito del tratamiento, sin embargo, muchos de ellos no son accesibles al público en general. Es el caso del mineral trióxido agregado que, según las investigaciones, a pesar de ser uno de los productos que más se acerca al concepto de “material ideal”, sus beneficios no han podido llegar a toda la población debido a su elevado costo. Es por ello que diversos estudios, en su intento de buscar un sustituto, han demostrado que el cemento Portland es muy similar al MTA con la ventaja de presentar un costo accesible. Este estudio se justifica debido a que permite sentar las bases de futuras investigaciones clínicas a fin de mejorar las propiedades antimicrobianas del cemento Portland a través de la asociación con nanopartículas de plata. Además, considerando que el origen de las materias primas utilizadas en la elaboración del cemento Portland puede influir en sus propiedades y que en la actualidad no existen investigaciones disponibles que evalúen la actividad antimicrobiana

de un cemento procesado en el Perú, se justifica el presente estudio a fin de proponer un material eficaz que sea accesible a toda la población y le brinde al cirujano dentista nuevas alternativas de tratamiento en su práctica clínica. El presente estudio utilizó el método de difusión en agar para la evaluación antimicrobiana, el cual se justifica debido a que es una de las técnicas más empleadas para este propósito. Asimismo, los cementos estudiados fueron evaluados en diversos periodos de tiempo, puesto que la actividad antimicrobiana de los agentes cementantes podrían sufrir variaciones en función del tiempo de fraguado de los materiales.

1.6 Limitaciones de la investigación

La ejecución de la investigación no presentó limitaciones relacionadas al tiempo para registrar los resultados debido a que se realizó *in vitro*, sin embargo, se requirieron materiales como las nanopartículas de plata y las cepas microbianas, las cuales debieron ser importadas del extranjero, por lo que el inicio de la investigación estuvo supeditado a la adquisición de los materiales señalados.

Si bien es cierto, la metodología de difusión en agar empleada en el presente estudio, ha sido la técnica más empleada para evaluar la actividad antimicrobiana; esta no contempla la diferenciación entre el efecto bactericida o bacteriostático de los agentes estudiados. Asimismo, al realizarse *in vitro* sobre microorganismos libres, el efecto antimicrobiano podría ser mayor, del que ocurriría si se enfrentaran los agentes a biopelículas, hecho que ocurre en una situación *in vivo*; lo que llevaría a una sobreestimación del efecto antibacteriano y antifúngico.

Por otro lado, debido a la naturaleza de un estudio *in vitro*, surge la limitación de que las conclusiones del presente estudio no pueden extrapolarse a la aplicación en el campo clínico.

1.7 Objetivos

Objetivo general

Determinar la eficacia antimicrobiana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* a las 24, 48 y 72 horas

Objetivos específicos

1. Determinar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente al *Enterococcus faecalis*
2. Determinar la eficacia antifúngica del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente a la *Candida albicans*
3. Comparar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis* tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.
4. Comparar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis* entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.
5. Comparar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a la *Candida albicans* tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.
6. Comparar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a la *Candida albicans* entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.

1.8 Hipótesis

Hipótesis general

El cemento endodóntico Portland con y sin nanopartículas de plata presentan diferencias significativas en la eficacia antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* en comparación con el Mineral Trióxido Agregado.

Hipótesis específicas

1. El cemento Portland con y sin nanopartículas y el Mineral Trióxido Agregado presentan eficacia antibacteriana a las 24, 48 y 72 horas frente al *Enterococcus faecalis*.
2. El cemento Portland con y sin nanopartículas y el Mineral Trióxido Agregado presentan eficacia antibacteriana a las 24, 48 y 72 horas frente al *Candida albicans*.
3. Existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis* tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.
4. Existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis* entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.
5. Existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y Mineral Trióxido Agregado frente a la *Candida albicans* tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.
6. Existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y Mineral Trióxido Agregado frente a la *Candida albicans* entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Marco conceptual

Actividad antimicrobiana

Propiedad de un material odontológico de eliminar o impedir el crecimiento de bacterias y hongos, el cual es medido cuantitativamente principalmente a través de la prueba de difusión en agar y el test de contacto directo. (Koruyucu, 2015)

Cemento Portland

Es el tipo de cemento más común utilizado en ingeniería civil, está compuesto de 65% de cal, 20% de sílice, 10% de alúmina y óxido férrico y 5% de otros componentes. Es un cemento de naturaleza hidráulica debido a que requiere para su fraguado la presencia de agua. (Steffen, 2009)

Mineral trióxido agregado (MTA)

Cemento a base de silicato, desarrollado en la década de los 90's por Torabinejad. Está compuesta de cemento Portland y óxido de bismuto como radiopacificador. Es utilizado en diversos procedimientos odontológicos como recubrimiento pulpar, reparación de perforaciones, obturación retrógrada, apexificación, entre otras. (Dawood, 2017)

Cemento a base de silicato de calcio

Cemento compuesto principalmente por silicato dicálcico y silicato tricálcico el cual al ser mezclado con agua produce hidróxido de calcio y silicato de calcio hidratado. Los cementos Portland y MTA están incluidos en esta categoría de cemento. (Prati, 2015)

Nanopartículas de plata

Partículas de plata a escala nanométrica (1-100 nanómetros) cargadas positivamente que al interactuar con la membrana celular de los microorganismos con carga negativa es atraída a ellos con la posterior alteración de la membrana y lisis celular. Además de poseer una gran reactividad al tener una mayor superficie de contacto. (Song, 2019)

2.1.1 Nanotecnología

Richard Feynman en 1975 fue el primero que empleó el término “nanotecnología” en la reunión anual de la Sociedad Americana de Física. (Freitas, 2000) describiendo que diversos materiales de un tamaño estructural de 1-100 nm tienen mejores propiedades ópticas, químicas, eléctricas y mecánicas que aquellas desarrolladas a mayor escala. (Bapat, et al., 2019). El incremento de la superficie en relación al volumen produce mayor reactividad química debido al aumento del número de átomos que están presentes cerca de la superficie en comparación con las microestructuras. Estas características beneficiosas han sido aprovechadas para confeccionar materiales y/o dispositivos, los cuales pueden actuar a nivel celular y molecular convirtiéndose en un aliado en la terapia médica y odontológica. (Shrestha, & Kishen, 2016)

2.1.1.2 Aplicación de las nanopartículas en odontología

Los rápidos avances de la nanotecnología en las ciencias médicas y odontológicas ha ampliado el espectro de acción en la terapia de diversas patologías, de esta forma, es usada en procedimientos de administración de fármacos, regeneración de tejidos y como agente antimicrobiano. (Song, 2019; Shrestha, 2016). El concepto de nanodontología en la actualidad involucra la aplicación terapéutica a través del desarrollo de diversos materiales a escala nanométrica para el diagnóstico y tratamiento de las principales afectaciones bucales, los nanomateriales son utilizados en el tratamiento de hipersensibilidad dentinaria, control de la biopelícula, diagnóstico y tratamiento de cánceres orales, sustitutos óseos, en materiales restauradores, ingeniería de tejidos, procedimientos endodónticos y componentes protésicos, en muchos de los casos su principal uso está orientado a la mejora de las propiedades antimicrobianas de diversos materiales de uso común en odontología que en asociación con compuestos nanoparticulados potencian su acción frente a bacterias y

hongos. (Bapat, 2019; Shrestha, 2016). Las nanopartículas metálicas y polímeros utilizados actualmente en la terapia estomatológica son: nanopartículas de plata, nanopartículas de oro, óxido de hierro, óxido de cobre, hidroxiapatita, dióxido de titanio, fluoruro de calcio, sílice, Chitosan, Zirconia, óxido de zinc y las nanopartículas poliméricas. (Bapat, et al., 2019)

2.1.2 Microbiología endodóntica

El deficiente sellado a nivel apical y coronal genera un ecosistema favorable a la proliferación bacteriana, las cuales son formadoras de biopelículas, además de ello el sistema inmunológico es incapaz de actuar frente a los microorganismos patógenos presentes en el conducto radicular. Debido al sellado apical deficiente los microorganismos se nutren a través de los vasos sanguíneos presentes en esa zona, del mismo modo la pérdida del sellado a nivel coronal resulta en la invasión de más bacterias que ingresan al conducto. (Ducret, et al., 2017)

La infección microbiana del sistema de conductos conlleva a la reacción del tejido periapical. Durante la primera etapa de la infección bacteriana la dentina es el tejido que ofrece resistencia a la invasión. La reacción inflamatoria generada por los microorganismos restringe la circulación sanguínea hacia la pulpa, limitando su capacidad de respuesta, provocando un daño pulpar irreversible y la progresión hacia una necrosis pulpar.

El grado de inflamación y la sintomatología periapical está en relación con la cantidad de células microbianas en el conducto, grado de virulencia, así como la respuesta del huésped. La biopelícula microbiana puede ser formada tanto en los túbulos dentinarios como en las paredes del conducto, siendo su profundidad muy variable. Se han aislado más de 500 especies bacterianas en las infecciones endodónticas. En las infecciones primarias están presentes con mayor frecuencia las bacterias anaerobias Gram negativas mientras que en las infecciones secundarias la microflora predominante está integrado por cocos y bastones

anaerobios facultativos Gram negativos (estreptococo, enterococo, peptoestreptococo y actinomyces). Las infecciones resistentes han sido asociadas generalmente con el *Enterococos faecalis* y *Cándida albicans*. (Sakko, Tjäderhane, & Rautemaa-Richardson, 2016). Si bien es cierto, los antibióticos pueden reducir de forma eficaz la inflamación en los casos de periodontitis apical aguda o crónica, no pueden eliminarla del todo, debido a que no pueden alcanzar a las bacterias presentes en el sistema de conductos. (Trusewicz, 2005)

2.1.2.1 *Enterococcus faecalis*

Se ha evidenciado la presencia de esta bacteria en infecciones intrahospitalarias, ello debido al contacto de pacientes con las manos de los trabajadores de salud y los equipos médicos que se utilizan, los cuales actúan como reservorios. (Vidana, 2015), en este contexto se le atribuye a este microorganismo diversas infecciones asociadas, tales como endocarditis, bacteriemia, infecciones del tracto urinario, meningitis y otras formas de infecciones sistémicas y locales, las cuales presentan como protocolo de tratamiento farmacológico el uso de tetraciclinas, ampicilinas, vancomicinas, gentamicinas, entre otros. (Barge S. 2013).

La resistencia a la desecación y la fortaleza de la bacteria agravan el panorama, por lo que diversas investigaciones han abordado la influencia de la contaminación cruzada hacia los tejidos dentales. (Vidana, 2015). En ese sentido, dentro de las diversas hipótesis que tratan de explicar la presencia de esta bacteria en la cavidad bucal, dos de ellas son las que han tenido mayor aceptación. La primera refiere al *Enterococcus* como colonizador primario, presente antes del proceso de necrosis y la otra lo describe como un colonizador oportunista durante y posterior al tratamiento de conducto. El proceso de colonización primaria explica la presencia del *Enterococcus faecalis* como agente etiológico de la caries dental, aunque esta hipótesis resulta poco probable debido a que esta bacteria tiene una frecuencia diez

veces menor que las bacterias frecuentemente asociadas a la caries dental, por lo que se hace difícil atribuirle la infección pulpar a través de mecanismos de colonización primaria (Chu, 2005). En esta misma línea, se ha sugerido también la infección del *Enterococcus faecalis* a través de esmaltes con fisuras o a través del proceso de anacoresis, en el que se infecta a la pulpa a través del torrente sanguíneo proveniente del tracto gastrointestinal. (Tziafas, 1989). Por otro lado, la segunda hipótesis, plantea la colonización de la pulpa durante el tratamiento endodóntico o posterior a él, mediante la pérdida de sellado coronal sobre todo con la restauración temporal o permanente de larga data. Como se ha mencionado, la presencia del *Enterococcus faecalis* se circunscribe mayormente colonizando la mucosa intestinal, sin embargo, la presencia de esta bacteria no comensal en la cavidad bucal se debe principalmente a la ingestión de alimentos contaminados, esto guarda consonancia con algunos artículos, los cuales han aislado en contadas ocasiones a esta bacteria en boca, sobre todo luego de la ingestión de alimentos contaminados. (Fisher, & Phillips, 2009)

En lo que respecta a la cavidad bucal, la tasa de éxito de los tratamientos de conductos varía entre 70 a 95%, sin embargo, la infección periapical persistente constituye uno de los principales motivos del fracaso endodóntico. (Zhang, 2015). Diferentes especies de microorganismos han sido detectados en las piezas dentarias con lesión periapical, tales como *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus*, *Dialister*, *Parvimonas*, *Fusobacterium*, y *Propionibacterium*, sin embargo, el *Enterococcus faecalis* es el microorganismo más frecuente en los conductos radiculares infectados y en los casos de retratamiento de periodontitis apical, alcanzando una prevalencia de 24 a 77% (AlShwaimi, 2016; & Stuart, 2006). El *Enterococcus faecalis* es un anaerobio facultativo Gram positivo posee mecanismos de virulencia que le permiten sobrevivir al tratamiento endodóntico

convencional, llegando a invadir los túbulos dentinarios y al colágeno. (Morgental, et al., 2011).

Presenta una elevada tolerancia ecológica, llegando a afrontar condiciones muy adversas debido a su polimorfismo genético, alcanzando incluso resistencia ante el hidróxido de calcio (Luddin, et al., 2013). Varios autores han demostrado que esta especie bacteriana presenta también resistencia al hipoclorito de sodio a concentraciones por encima de 5%, del mismo modo puede presentar resistencia al peróxido de hidrógeno, etanol, y radiación ultravioleta en ausencia de nutrientes durante períodos prolongados además de poseer la capacidad de multiplicarse a temperaturas entre 10 y 45 °C (Dioguardi, et al., 2018)

Diversas investigaciones han comparado la frecuencia del *Enterococcus faecalis* tanto en tratamiento endodónticos primarios, como en tratamientos de conductos fallidos (infección secundaria). Algunos de ellos correlacionaron la presencia del *Enterococcus* en mayor medida con la infección persistente que con la infección primaria, mientras otros estudios no encontraron diferencias entre ambos tipos de infecciones. En una reciente revisión sistemática (Zhang, 2015) estudió la correlación existente entre el *Enterococcus faecalis* y la infección intrarradicular persistente comparado con la infección intrarradicular primaria, concluyendo que se evidenciaba en su estudio una alta correlación de la presencia del *Enterococcus faecalis* con la infección intrarradicular persistente.

La elevada patogenicidad del *Enterococcus faecalis* y las infecciones recurrentes que provoca se debe fundamentalmente a dos factores, por un lado su resistencia a los antimicrobianos de uso frecuente en la práctica odontológica, reportándose un elevado nivel de resistencia a la cefalosporina y aminoglucósidos, e incluso a la tetraciclina (Lins, et al., 2013) y por otro su capacidad de formar biopelículas.

Se ha mencionado la capacidad del *Enterococcus faecalis* de resistir a una serie de antibióticos y ello se debe en una gran medida a su capacidad de formar biopelículas, los

cuales se constituyen como agregados de microorganismos densos adheridos a una superficie rodeados de una matriz polimérica formada por polisacáridos, proteínas y ADN extracelular (Hoiby, 2011). La resistencia antibiótica del *Enterococcus* puede deberse a un componente genético de la bacteria, sin embargo, también se presenta porque los medicamentos no pueden alcanzar a las bacterias albergadas en el interior de la matriz del biofilm, actuando sólo a nivel de las capas superficiales de la película, donde luego de un tiempo, tras la disminución del efecto antibacteriano del agente administrado, las bacterias sobrevivientes proliferan formando nuevas capas de la biopelícula. Por otro lado, el sistema inmune se encuentra incapaz de actuar frente a la bacteria, pues ella se encuentra adherida en el complejo sistema de conducto radicular. Frente a estos factores la terapia convencional no ha demostrado ser del todo eficaz, es por ello que recientes investigaciones proponen terapias innovadoras aún no utilizadas como el empleo de bacteriófagos, los cuales son efectivos frente a la biopelícula y a las bacterias resistentes a diversos fármacos (Khalifa, et al., 2016)

2.1.2.2 Cándida albicans

En la literatura científica se ha determinado extensamente el rol de las bacterias como causante de la periodontitis apical, sin embargo, en el proceso de colonización del conducto radicular intervienen también otros microorganismos, los cuales aún no han sido detallados ampliamente, tal es el caso de los virus, bacteriófagos, arqueas y hongos. Se ha establecido que los hongos tienen una alta prevalencia en la cavidad bucal de personas sanas (Ghannoum et al. 2010) y están presentes con mayor frecuencia en personas con inmunidad comprometida. Se le ha encontrado también en las infecciones del conducto radicular, siendo significativo su papel en la periodontitis apical. Diversos estudios comparativos no han logrado demostrar diferencias de su prevalencia según el tipo de infección del conducto. (Dumani et al. 2012) La prevalencia de especies fúngicas en el conducto infectado resulta

muy variable. Algunos meta-análisis han encontrado una prevalencia del orden de 7,5% (Persoon, 2017). En otro estudio (Bernal et al., 2018) se reportó que la prevalencia de levaduras, independientemente del tipo de infección, primaria o persistente, fue del orden de 36%. En la infección del conducto radicular los hongos más frecuentes identificados fueron en mayor medida del género *Cándida*, seguidos de *Saccharomyces*, *Aspergillus* y *Rhodotorula* (Persoon, 2017) . Un meta-análisis realizado por (Mergoni et al. 2018) reportó que la prevalencia general de *Cándida* en las infecciones del conducto radicular fue de 8,20%, siendo la *Cándida albicans* la especie aislada más frecuente reportada en los estudios, otras especies de *Cándida* descritas en la misma revisión fueron *Candida tropicalis*, *Candida kefyr*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis* , *Candida guilliermondii* y *Candida etchellsii*. La prevalencia de *Cándida albicans*, determinada a través de reacción en cadena de polimerasa (PCR) por (Dumani et al. 2012) fue de 15,5 %. En ese mismo sentido (Bernal et al., 2018) encontró una prevalencia *C. albicans* de 26%. Por otro lado (Kovac, 2013) determinó a través de medios de cultivos la prevalencia de *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* en conductos radiculares infectados o con infección periapical, reportando la prevalencia de *C. albicans* en 9.4%.

Cabe mencionar que cierta literatura científica sugiere al componente geográfico como un factor influyente en la prevalencia de agentes infecciosos endodónticos (Baumgartner, 2004). En ese sentido, se ha reportado la prevalencia de *Cándida albicans* más alta en poblaciones de África (24,82%) comparada con estudios en poblaciones de Asia, Europa, Norteamérica y Sudamérica (10.56%, 4.62% , 4.67% y 8.57%, respectivamente) (Mergoni et al. 2018).

La *Cándida albicans* es capaz de adaptarse a condiciones adversas del ambiente endodóntico incluso en un medio escaso de nutrientes como el conducto radicular luego de la desinfección y conformación del mismo, además es capaz de crear persistencia en un medio alcalino, en

ese sentido, se ha reportado que este hongo es resistente a los medicamentos intraconductos de uso común. Aunque este microorganismo se desarrolla perfectamente en un ambiente aerobio, se ha reportado que también es capaz de adaptarse y formar biofilms en un medio anaerobio. (Ning et al. 2013)

Dentro de los mecanismos de virulencia de la *Cándida albicans* se atribuye como factor predominante su capacidad por formar biofilms altamente estructurados, un biofilm está constituido por un conjunto de microorganismos formados en comunidad y adheridos a una superficie rodeada de una matriz extracelular, esta característica le confiere su capacidad de crear resistencia antes los agentes químicos y físicos aplicados durante el tratamiento endodóntico (Gulati & Nobile, 2016).

Otro mecanismo de virulencia atribuida a la *Cándida albicans* es su capacidad de sintetizar enzimas hidrolíticas, las cuales producen alteraciones a los tejidos perirradiculares, entre ellas tenemos a la aspartil proteinasa, aminopeptidasas, colagenasas, glucosaminidasas, hialuronidasa, condroitin sulfatasa y fosfatasa alcalina, los cuales tienen la capacidad de generar degradación de las proteínas de la matriz extracelular, y generar efectos colagenolíticos en la dentina. (Siqueira, 2004).

Los hongos pueden desarrollarse independientes o en comunidad con las bacterias del conducto radicular, sin embargo, al interactuar ambos microorganismos puede resultar en el incremento de su virulencia. provocando un ambiente ecológico resistente a los tratamientos endodónticos convencionales, en esa línea (Persoon et al. 2017) propusieron establecer la relación existente entre bacterias y hongos en infecciones primarias del conducto radicular, en dicha investigación confirmaron la correlación del microbioma y bacterioma infeccioso del conducto radicular en relación a la presencia de bacterias y hongos de tipo acidogénicos, sin embargo, no pudieron precisar si ello afecta el éxito del tratamiento endodóntico.

Debido a la alta prevalencia y virulencia tanto de la *Cándida albicans* como del *Enterococcus faecalis* en los conductos infectados, múltiples investigaciones han estudiado diversos mecanismos de desinfección durante el proceso de tratamiento endodóntico en infecciones primarias o en retratamientos de conductos, así por ejemplo se han planteado la aplicación de productos naturales alternativos como el quitosan o el propóleo en el tratamiento de endodoncia, específicamente frente al *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* (Skoskiewicz-Malinowska, 2017) , asimismo (Diodo et al. 2017) propusieron el uso de la terapia fotodinámica antimicrobiana contra las biopelículas de *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*. Con ese mismo objetivo, (Mozayeni, 2015) propuso la eficacia de geles de nanopartículas de plata frente a cepas de *Cándida albicans*.

La resistencia que presentan ambos microorganismos, tanto el *E. faecalis* como la *C. albicans* y principalmente su capacidad para formar biofilms, lo cual le provee protección frente a diversos agentes químicos y físicos, constituyen un reto en la terapia endodóntica en su intento de controlar y eliminar los microorganismos presentes en el sistema de conductos.

2.1.3 Cementos endodónticos a base de silicatos de calcio

Un material de relleno endodóntico ideal, debe contar con las siguientes características: sellado tridimensional del sistema de conducto, no debe ser tóxico ni cancerígeno, no ser genotóxico y debe ser biocompatible con los tejidos, debe ser insoluble en los fluidos tisulares y contar con estabilidad dimensional, además realizar un correcto sellado, debe ser de fácil manipulación, poseer radiopacidad adecuada y tolerar a la sangre o los fluidos orales durante el proceso de fraguado. (Parirokh, 2010 & Alsalleeh, 2014)

En la búsqueda de este material ideal se ha propuesto el uso de los cementos a base de silicato de calcio, el cual cumple con varias de las características mencionadas al ser un cemento de naturaleza hidráulica y ser muy versátil al emplearse en diversas aplicaciones clínicas con

reportes favorables de su eficacia y biocompatibilidad. El polvo de estos cementos está compuesto principalmente de silicato dicálcico y tricalcico, al mezclarse con el agua, genera hidróxido de calcio y silicato de calcio hidratado, la mezcla forma un gel coloidal que posteriormente se solidifica (Dawood, 2017)

El ProRoot® MTA gris (Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN, EE. UU.) fue el primer cemento a base de silicato de calcio disponible en el mercado, seguido del ProRoot® MTA blanco, varias de las investigaciones realizadas se basaron en estos dos materiales que se constituyeron como el estándar para comparar los cementos nuevos a bases base de silicato de calcio, los cuales aparecieron a fin de superar o eliminar las desventajas de los cementos originales (Prati, 2015), entre estas desventajas podemos mencionar: elevado tiempo de fraguado, difícil manipulación, pigmentación, alto costo, baja resistencia a la compresión, baja capacidad de fluidez y posibles manifestaciones inflamatorias en el tejido pulpar subyacente debido a que comparte con el hidróxido de calcio el mismo mecanismo de inducción de formación de tejido duro. (Hosoya, 2019; Dawood, 2017; Silva, 2014) . El primero de estos nuevos materiales basados en silicato de calcio fue el iRoot SP (Innovative Bioceramix, Vancouver, Canada), el cual fue asociado con la propiedad de ser “biocerámico”, cuyo término implica su implantación en los tejidos sin causar una reacción desfavorable posterior, están compuestos de silicato de calcio, alumina, cerámica de vidrio, hidroxiapatita, fosfato de calcio reabsorbible y radiopacificadores, como se ha mencionado, la reacción al hidratar del silicato de calcio produce la precipitación de fosfato de calcio lo que estimula la formación de nuevo tejido después del contacto (Donnermeyer, 2019) .

Existen en el mercado selladores a base de silicato de calcio contenidos en diferentes matrices como son las siliconas (GuttaFlow BioSeal, Coltène Whaledent, Langenau, Germany), resinas (Smartpaste Bio, DRFP Ltd, Stamford, UK), o salicilatos de calcio (MTA Fillapex, Angelus, Londrina, Brasil) (Donnermeyer, 2019)

Como se ha mencionado, los cementos a base de silicato de calcio tienen una amplia variedad de aplicaciones clínicas; ha sido utilizado en recubrimiento pulpar directo, recubrimiento pulpar indirecto, reparación de perforaciones, obturación retrógrada, apexificación, pulpotomías, entre otros . (Duarte et al., 2018; Hosoya et al., 2019; Silva, 2014).

2.1.3.1 Propiedades físicas de los cementos a base de silicato de calcio.

Expansión

Se ha mencionado que los cementos a base de silicato de calcio, tienen una expansión de 0,2 a 6% de su volumen inicial, la cual es inducida por la absorción de agua del propio material, lo que contribuye a su capacidad de sellado. Cabe mencionar que las proteínas presentes en los fluidos del conducto disminuyen la expansión de los cementos e incrementa el tiempo de fraguado. (Gandolfi, 2009 & Prati, 2015).

Capacidad de sellado

En una revisión sistemática (Solanki, 2018) al comparar los cementos a base de silicato de calcio, MTA y Biodentine, concluyó que el Biodentine presentó buena capacidad de sellado como relleno del conducto y que éste puede ser usado en la práctica clínica como un material de obturación retrógrada. Otros estudios in vitro han analizado la habilidad de sellado de los cementos a base de silicato de calcio como el MTA cuyos resultados han coincidido en determinar que este material es mejor que otros utilizados anteriormente, sobre todo en el tratamiento de perforaciones. (Hosoya et al., 2019)

Tiempo de fraguado

El tiempo de fraguado de los cementos convencionales a base de silicato de calcio es considerado clínicamente prolongado, este es variable según el estudio y la marca del

material evaluado, así por ejemplo, el tiempo de fraguado del MTA gris y MTA blanco (ProRoot MTA) es de 2 horas 45 minutos y 2 horas 20 minutos respectivamente, mientras que la marca Angelus MTA alcanza un tiempo de fraguado de al menos 10 minutos y un fraguado final de al menos 24 minutos. Asimismo, el Biodentine, alcanza un tiempo de fraguado de 6.5 a 45 minutos. (Dawood, 2017) .

Resistencia a la compresión

La resistencia a la compresión del cemento a base de silicato de calcio MTA es menor que el presentado por la amalgama, IRM (Material de restauración intermedio) y el Super EBA luego de las 24 horas, sin embargo, luego de 21 días no hubo diferencias significativas en la resistencia a la compresión de los materiales evaluados (Torabinejad, 1995). Se ha determinado también, según lo revisado por (Parirokh, 2010) que en condiciones de poca humedad el MTA presentó valores menores de resistencia a la compresión y que esta también se ve afectada cuando el material es grabado con ácido fosfórico, por lo que se sugiere colocar el composite posterior a las 96 horas de colocado el cemento a base de silicato de calcio.

Radiopacidad

Diferentes radiopacificadores han sido incluidos como componentes de los cementos a base de silicato de calcio, el óxido de bismuto por ejemplo forma parte del compuesto de ProRoot MTA y MTA Angelus a una concentración de 20%. Otros cementos han añadido en su composición el óxido de zirconio, el sulfato de bario y tungstato de calcio que mejoran la radiopacidad. (Prati, 2015) La radiopacidad media reportada del MTA alcanza el valor de 7.17 mm del equivalente al espesor de aluminio, el cual es un valor más alto que el presentado por Super EBA o IRM (Material de restauración intermedio). (Parirokh, 2010).

Cabe mencionar que debido a que el óxido de bismuto, utilizado frecuentemente como radiopacificador de los cementos a base de silicato de calcio puede reducir la biocompatibilidad de estos, algunas presentaciones comerciales son producidos sin incluirlos en sus componentes a fin de ser usados para aplicaciones clínicas específicas como apicogénesis o recubrimiento pulpar. (Prati, 2015)

Alcalinización

Durante la reacción de hidratación los cementos a base de silicato de calcio incrementan su actividad alcalinizadora al aumentar sus valores de pH, ello está asociado a que en esta fase se libera hidróxido de calcio, el cual confiere al material propiedades antimicrobianas, lo cual produce desnaturalización de la proteína y alteración del ADN y de la membrana citoplasmática. (Prati, 2015). Cabe mencionar que un valor de pH de 10.5 a 11.0 retarda el crecimiento del *Enterococcus faecalis*, mientras que la inhibición ocurre a un pH de 11.5 o mayor. (McHugh, 2004)

2.1.3.2 Cemento Portland (CP)

Este cemento es usado en la industria de la construcción, tiene una presentación de polvo fino producido por la trituración del cemento Clinker. Es considerado de naturaleza hidráulica, está compuesto de 65% de cal, 20% de sílice, 10% de alúmina y óxido férrico y 5% de otros componentes. La cal está compuesta de óxido de calcio y magnesio (Steffen, 2009).

El proceso de producción consiste en la molienda de minerales, arcilla y cal, las cuales son calcinadas a 1400 °C produciendo cambios físicos y químicos en las materias primas. El “clíncker” resultante de este proceso se pulveriza y se añade 2 a 3% de yeso para retardar el fraguado. (Steffen, 2009). Entre los componentes resultantes encontramos al silicato

dicálcico [Ca_2SiO_4], silicato tricálcico [Ca_3SiO_5], aluminato tricálcico [$\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_6$], sulfato de calcio [CaSO_4 , yeso], y aluminoferrita de tetracalcio [$4\text{CaOAl}_2\text{O}_3\text{Fe}_2\text{O}_3$] (Dawood, 2017).

En el mercado actual, el costo del MTA y otros cementos a base de silicato de calcio son muy elevados, a pesar que se conoce su alta eficacia en una serie de tratamientos aún no es accesible a todos los niveles de atención de salud, es por ello que diversos autores han investigado materiales alternativos como posibilidad de reemplazo o sustitución. En esa búsqueda diversas investigaciones han estudiado las propiedades químicas del mineral trióxido agregado (MTA) y el cemento portland, reportando en sus conclusiones que ambos cementos están constituidos por los mismos elementos, a excepción del óxido de bismuto que le es añadido al MTA para proporcionarle propiedades de radiopacidad. En ese sentido, el primer estudio que consideró como posibilidad de comparación al cemento Portland y el MTA fue el realizado por (Estrela, 2000), quien comparó los componentes químicos de los materiales a través de un análisis de fluorescencia de rayos X, concluyendo que el cemento Portland contiene los mismos elementos químicos del MTA a excepción del óxido de bismuto de este último, similar conclusión obtuvo (Funteas, 2003) quien a través de espectrometría de emisión de plasma comparó al cemento Portland y MTA determinando que no hubo diferencias significativas en 14 elementos químicos de ambos materiales. Asimismo, (Oliveira, 2007) al realizar un estudio comparativo de los componentes químicos del cemento Portland y al MTA de dos marcas distintas (Pro-Root y MTA- Angelus) a través de espectroscopía de energía dispersa, concluyó que los materiales presentaban componentes similares, por lo que consideró, en lo que respecta a su composición, el posible uso clínico del cemento Portland como una opción para el MTA. (Hwang, 2009) a través de un análisis de energía dispersa de rayos x también concluyó que tanto en MTA y el cemento Portland tiene los mismos componentes a excepción del óxido de bismuto. A igual conclusión llegó

(Steffen, 2009) quien en una revisión de la literatura refirió la existencia de una base sólida para la realización de estudios clínicos con cemento Portland para reemplazar el MTA como material endodóntico.

A partir de la confirmación de que los componentes químicos del MTA son muy similares al del cemento Portland las investigaciones se centraron en establecer sus propiedades físicas y biológicas en el afán de considerarlo como material de reemplazo del MTA.

Para determinar la biocompatibilidad de diversos materiales se emplea una serie de técnicas, entre las que figura el ensayo MTT, el cual tiene como beneficios su simplicidad, rapidez y precisión, este test de laboratorio identifica a las células viables luego del contacto con los materiales estudiados. En una investigación (Hwang, 2009) se empleó esta prueba para investigar la biocompatibilidad del cemento Portland y compararlo con el MTA, encontrando que no hubo diferencias significativas entre los materiales, a excepción del grupo de MTA a las 24 horas, que tuvo una viabilidad celular ligeramente mayor. Otros estudios concluyen también que el cemento Portland tiene las mismas propiedades de biocompatibilidad que el MTA (Bramante, 2013; Mangala, 2015; Qutieshat, 2019),

Otros estudios (Dorileo, 2014) al realizar una comparación y análisis de las propiedades físico químicas del cemento Portland y el MTA utilizando los protocolos de la American National Standard Institute/American Dental Association (ANSI/ADA) concluyendo que el MTA y el cemento Portland presentan propiedades similares. Del mismo modo, en un estudio comparativo para determinar las propiedades mecánicas y físicas del MTA y el cemento portland (Islam, 2006) se evaluó el pH, radiopacidad, tiempo de fraguado, solubilidad, estabilidad dimensional y resistencia a la compresión; demostrando que el MTA (ProRoot MTA) tiene propiedades físicas muy similares al cemento Portland, aunque este evidenció una menor radiopacidad debido a la ausencia de óxido de bismuto.

Con el fin de mejorar diversas propiedades del cemento Portland y en su afán de proponerlo como sustituto del MTA o incluso superar los beneficios de éste último, diversos investigadores le han añadido compuestos adicionales, entre los que figuran agentes radiopacificadores, aceleradores, sustancias antimicrobianas sintéticas o naturales, entre otros, sin que estos influyan en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas. Es el caso de la adición de componentes radiopacificadores como el óxido de bismuto, los cuales según la evidencia científica, no alteraron sus propiedades de pH, biocompatibilidad y radiopacidad (Marciano, 2014; Chen et al. 2014; Zeferino, 2010 & Hwang, 2009). Sin embargo, (Weckwerth, 2012) reportó que al añadir al cemento Portland subnitrito de bismuto y carbonato de bismuto como radiopacificadores presentaron una influencia negativa en sus propiedades de solubilidad, pH. Otras investigaciones (Camilleri, 2010; Lourenço Neto, 2014 & Marciano, 2014) tampoco mostraron afectación en su biocompatibilidad al añadirse radiopacificadores. Los aceleradores de fraguado adicionados a sus componentes no afectaron su propiedad de biocompatibilidad al ser comparado con el MTA (Camilleri, 2005). Por otro lado, como se ha mencionado, los cementos a base de silicato de calcio como el MTA y el cemento Portland presentan una actividad antimicrobiana con resultados contradictorios, ya que varias investigaciones mencionan que tiene un efecto limitado (Torabinejad, 2015; Shin, 2017; Morgental, 2011 & Dalmia, 2018) Para mejorar las propiedades antimicrobianas del cemento Portland se ha propuesto la adición de una serie de agentes, los cuales no alteraron significativamente sus propiedades fisicoquímicas ni biológicas. Tal como los demuestran los estudios realizados al añadirle componentes antimicrobianos como monómeros de amonio cuaternario (Yang et al. 2018), Aloe Vera (Henrique et al. 2017), nanopartículas de óxido de zirconio y óxido de niobium (Guerreiro, 2014), óxido de zirconio y óxido de zirconio + nanopartículas de plata (Vazquez-Garcia et al. 2016), óxido de zirconio al 20% (Weckwerth, 2012) y nanopartículas de plata (Nam,

2017). Aunque en una investigación la adición de óxido de zinc produjo mayor radiopacidad, al mismo tiempo disminuyó la resistencia a la compresión del compuesto formado por cemento portland más óxido de zirconio como radiopacificador (Guerreiro-Tanomaru et al. 2014)

2.1.3.2.1 Actividad antimicrobiana del cemento Portland

La actividad antimicrobiana del cemento Portland se debe fundamentalmente a que cuando éstos son expuestos al agua, forman hidróxido de calcio, el cual induce al incremento del pH a través de la disociación de iones de calcio e hidroxilo, aunque esta es la principal explicación para establecer el mecanismo de acción antimicrobiana, existen organismos endodónticos que pueden eliminarse en condiciones ajenas a las variaciones del pH. (Guerreiro-Tanomaru, 2012). Diversas investigaciones han evaluado al cemento Portland y la mayoría de ellas han demostrado que este material presenta actividad antibacteriana y antifúngica principalmente frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* respectivamente, además que su eficacia para eliminar microorganismos es muy parecida al MTA, sin embargo, algunos otros estudios no han demostrado estas propiedades o consideran que sus efectos antimicrobianos son limitados. Así, por ejemplo, (Miyagak, 2006) al evaluar la eficacia antimicrobiana del cemento Portland y el MTA a través del método de difusión en agar, no evidencia efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus faecalis* ni *Cándida albicans* en ninguno de los dos materiales. A similar conclusión llegó otra investigación (Melo, 2015) la cual reportó que ni el MTA ni el cemento Portland tuvieron efecto antibacteriano frente al *Enterococcus faecalis*, pero si inhibieron, mediante la prueba de difusión en agar, el crecimiento de otro tipo de bacterias cariogénicas como el *Lactobacillus acidophilus*.

Otro estudio (Asgary, 2008) indicó que no hubo diferencias entre el cemento Portland y MTA respecto a las propiedades antibacterianas frente a *Enterococcus faecalis* en ninguno de los tres tiempos estudiados, concluyendo que ambos presentan actividad antibacteriana aunque no mayor que el hidróxido de calcio. Otra investigación, al evaluar al cemento Portland puro y compararlo con la adición a este de diversos radiopacificadores, encontró que sus propiedades antibacterianas y antifúngicas no se vieron afectadas y que todas las especies microbianas fueron inhibidas por los cementos evaluados. (Guerreiro-Tanomaru, 2012). Una investigación (Tanomaru-Filho, 2007) también reportó que al evaluar la actividad antimicrobiana del MTA blanco y gris y el cemento Portland blanco y gris frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* no se evidenciaron diferencias entre ambos materiales, presentando un efecto limitado contra dichas cepas en comparación con otros cementos evaluados en dicho estudio. Como hasta ahora se ha visto, las propiedades antimicrobianas del MTA y cemento Portland si bien son similares en cuanto a sus características físicas, químicas y biológicas, son limitadas en su efecto antimicrobiano si son comparados con otros materiales, es por ello que algunos investigadores en el intento de mejorar esta propiedad han propuesto añadir ciertos compuestos a estos cementos a fin de mejorar su eficacia frente a bacterias y hongos. Así, por ejemplo, en un estudio (Guerreiro Tanomaru, 2014) se añadieron micro y nanopartículas de óxido de zirconio al cemento Portland y al MTA a fin de mejorar sus propiedades frente a *Enterococcus faecalis*, *Cándida albicans* y otros microorganismos, los resultados indicaron que al añadir estas partículas al MTA se evidenció una mejora en las propiedades antimicrobianas, no ocurriendo lo mismo con el cemento Portland. Otras investigaciones, han añadido al cemento Portland nanopartículas de plata para analizar su eficacia antimicrobiana (Nam, 2017) encontrando que esta promueve la inhibición frente a las bacterias estudiadas, además de promover sus propiedades biomecánicas.

2.1.3.2.2 Estudios clínicos del cemento Portland

Los resultados de las investigaciones clínicas que proponen al cemento Portland como sustituto del MTA son alentadores. En un ensayo clínico aleatorizado (Petrou, 2014) se estudiaron 86 pacientes que requerían recubrimiento pulpar indirecto, el promedio de edad fue de 17 años a los que se dividieron en 3 grupos aplicándoseles tres tipos de materiales: hidróxido de calcio, cemento Portland médico y MTA blanco, los cuales fueron reevaluados a los 6 meses considerando historia de dolor sensibilidad a la percusión y a la palpación, movilidad y ausencia o existencia de fístula o edema, los resultados mostraron una tasa de éxito del 90.3% independientemente del material empleado. Los autores concluyen que los recubrimientos pulpares indirectos deben realizarse preferente con materiales no reabsorbibles como el MTA o el cemento Portland.

En un ensayo clínico controlado aleatorizado (Sakai, 2009) se evaluó la eficacia clínica del cemento Portland comparado con el MTA como agente de recubrimiento en pulpotomías en dientes con caries primaria, se trataron 30 molares mandibulares deciduos de 5 a 9 años de edad. La restauración final de la pieza dental fue realizada con ionómero de vidrio. Se realizó un registro del éxito o fracaso de tratamiento a partir del análisis clínico y radiográfico en un periodo de seguimiento de 6, 12, 18 y 24 meses. Los resultados mostraron que todas las pulpotomías realizadas fueron exitosas, además no hubo diferencias significativas en la formación del puente dentinario entre ambos materiales, sin embargo, el inicio de aposición del tejido mineralizado a los 6 meses pudo ser observado en el 100% de los casos en los dientes tratados con cemento. Portland y solo 57.14% de los casos con el MTA. Los autores concluyeron que el cemento Portland puede ser un sustituto efectivo y económico al MTA. En otra investigación (Yildirim, 2016) comparó los resultados clínicos y radiográficos de 4 materiales (formocresol, MTA, cemento Portland y una matriz derivada del esmalte) en tratamientos de pulpotomías de 140 primeras y segundas molares deciduos de 65 pacientes

entre 5 y 9 años de edad. Luego de un seguimiento de 24 meses se evidenció que el cemento Portland tuvo un éxito clínico y radiográfico de 93.9% y 86.7% respectivamente, no existiendo diferencias significativas con los otros materiales estudiados.

Otro estudio (Marques, 2015) evaluó la respuesta del tejido pulpar en tratamientos de pulpotomías de molares deciduas en niños de 5 a 9 años al utilizar cemento portland sin radiopacificadores añadidos y asociado a los radiopacificadores iodoformo y óxido de zirconio. Realizó un seguimiento de hasta 24 meses a través de registros clínicos y radiográficos, además se extrajeron las piezas en sus periodos de exfoliación regular a fin de realizar un análisis histológico. Los resultados mostraron que todas las piezas tuvieron tratamientos exitosos y una respuesta biológicamente positiva de la reparación pulpar con la formación de una barrera de tejido duro.

En otra investigación (Oliveira, 2013) se comparó la respuesta clínica, radiográfica e histológica del MTA, hidróxido de calcio y cemento Portland en pulpotomías de 45 molares mandibulares deciduas de niños entre 5 a 9 años. Se hizo un seguimiento clínico y radiográfico a los 6, 12 y 24 meses; posteriormente las piezas fueron extraídas en el periodo regular de exfoliación para el análisis histológico. Los resultados mostraron que el MTA y cemento Portland mostraron una tasa de 100% de éxito en los 3 periodos de seguimiento, no ocurriendo lo mismo con el hidróxido de calcio donde hubo varios fracasos; la aposición de dentina mineralizada obliterando el conducto radicular se presentó en los pacientes tratados con cemento portland y MTA. Es por ello que los autores concluyeron que estos dos cementos pueden ser efectivos en el tratamiento de pulpotomías de dientes deciduos.

2.1.3.3 Mineral trióxido agregado (MTA)

Torabinejad desarrolló en la década de los 90's un cemento a base de silicato conocido como mineral trióxido agregado (MTA), el cual fue aprobado por la Administración de Alimentos

y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) en 1998 y comercializado bajo la marca ProRoot® MTA (Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN, EE. UU.). (Lee, 1993). Debido a sus altas propiedades y versatilidad en la aplicación de diversos procedimientos, el MTA se ha convertido en el sustituto de hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$, como lo demuestran estudios clínicos, esta necesidad de reemplazo de hidróxido de calcio se debe a mejorar la calidad del tejido duro inducido por el material y a que este puede producir debilitamiento de la dentina conllevando a un riesgo de fractura a nivel de la raíz. (Bakland, 2012)

El polvo del MTA está compuesto de cemento Portland (el cual consiste en una mezcla de silicato dicálcico $[\text{Ca}_2\text{SiO}_4]$, silicato tricálcico $[\text{Ca}_3\text{SiO}_5]$, aluminato tricálcico $[\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_6]$, sulfato de calcio $[\text{CaSO}_4$, yeso], y aluminoferrita de tetracalcio $[\text{4CaOAl}_2\text{O}_3\text{Fe}_2\text{O}_3]$) y óxido de bismuto como agente radiopacificador, además, presenta pequeñas cantidades de óxido de silicio (SiO_2), óxido de calcio (Ca_2), óxido de magnesio (MgO), sulfato de potasio (K_2SO_4) y sulfato de sodio (Na_2SO_4) estas finas partículas hidrofílicas de polvo, se mezclan con el agua destilada que incluye el kit de MTA. (Dawood, 2017)

2.1.3.2.1 Propiedades antimicrobianas del MTA y sus derivados

Diferentes estudios de investigación han examinado los efectos antimicrobianos del MTA con resultados discordantes (Dalmia, 2018 & Huang, 2019). Múltiples investigaciones reportan que los cementos a base de silicato de calcio (MTA) presentan un efecto antibacteriano y antifúngico discreto o limitado, así por ejemplo en una investigación (Farrugia, 2017) se examinó la actividad antimicrobiana del MTA ProRoot, frente al *Enterococcus faecalis* sometiendo este material al contacto con sangre, agua y heparina, utilizando como indicador de la actividad antimicrobiana el test de difusión Agar, el test de contacto directo y el test de infección intratubular, encontrando que el MTA en contacto con sangre tuvo una actividad antimicrobiana limitada al ser medido con el test de contacto

directo y el test de infección intratubular, asimismo, concluye que el MTA tuvo una reducción significativa de la actividad antimicrobiana después de los siete días. En el mismo sentido, (Dalmia, 2018) Realizó un estudio in vitro para determinar la eficacia antimicrobiana de diferentes selladores endodónticos (sellador a base de resina, sellador a base de óxido de zinc eugenol, sellador a base de hidróxido de calcio, y mineral trióxido agregado - MTA) frente al *Enterococcus faecalis*, a través del método de difusión en agar encontrando que el MTA fue el cemento de menor eficacia antibacteriana, decayendo aún más su efectividad conforme transcurría el tiempo.

El MTA no presentó eficacia antibacteriana contra *Enterococcus faecalis*, Estafilococo aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli u otras bacterias anaerobias en un estudio realizado por (Torabinejad, 2015). En otra investigación (Shin, 2017) Al comparar el efecto antibacteriano entre el MTA ProRoot y un nuevo MTA de fraguado rápido frente a cepas de *Enterococcus faecalis* y Estreptococo mutans a través de la técnica de difusión en agar, no se evidenció efecto antibacteriano en ninguno de los dos materiales evaluados después de 24 y 48 horas. Asimismo, (Morgental, 2011) al evaluar diferentes selladores endodónticos a base de silicato de calcio, entre los que figuraban el MTA blanco (Angelus, Londrina, PR, Brazil) y Endo CPM Sealer reportó que estos últimos no presentaron efecto antibacteriano frente al *Enterococcus faecalis*.

Los reportes de actividad antimicrobiana presentados hasta ahora en nuestra revisión de la literatura han evidenciado un efecto escaso de los cementos a base de silicato de calcio como el MTA, sin embargo, se conoce que la eficacia antibacteriana de este material se debe fundamentalmente a sus altos valores de pH y a la liberación de hidróxido de calcio, el cual produce la desnaturalización de proteínas del medio (Perard, 2013), principalmente en el tiempo más próximo luego de ser mezclado (Shin, 2017). La alcalinización del medio ocurre

a través de la disociación de los iones de calcio y los iones hidróxido cuando el material entra en contacto con el agua (Silva, 2014). En ese sentido, es necesario conocer que el *Enterococcus faecalis* no puede sobrevivir a un pH igual o mayor a 11.5. (McHugh, 2004). Tal como se mencionó, los reportes existentes son contradictorios, ello puede deberse a la naturaleza de la fuente bacteriana, la diferencia entre cepas, la cantidad de bacterias inoculadas, el tiempo de incubación, la actividad metabólica de los microorganismos evaluados, además de las propias características del material investigado, tales como el tamaño molecular, solubilidad y difusión de los materiales a través del medio agar acuoso además de la propia metodología de determinación de la eficacia antibacteriana, entre otros. (Silva, 2014)

En una reciente revisión sistemática (AlShwaimi, 2016) menciona, en contraparte a lo que hasta ahora se ha mencionado en nuestra revisión, que todas las investigaciones incluidas en su estudio presentaron actividad antimicrobiana positiva sobre cultivos de *Enterococcus faecalis*, aunque califica de moderados su nivel de evidencia. Otra investigación (Koruyucu, 2015) reporta que al comparar el MTA Angelus, Biodentin y Dycal frente a cepas de *Enterococcus faecalis* a través del test de contacto directo, el MTA evidenció la mejor actividad antibacteriana, siendo el Biodentine muy similar a él. En dicha investigación también se menciona que para determinar las características antimicrobianas de un material, tradicionalmente se emplean el test de difusión en agar y el test de contacto directo, presentando este último mayores ventajas debido a un mejor control de los factores de confusión, además de tener la capacidad de evaluar materiales frescos, inmediatamente después de su manipulación, además de tener la capacidad de evaluar la actividad antimicrobiana de componentes insolubles. El uso de un método u otro puede variar los resultados de la investigación, hecho que se evidencia en el estudio realizado por (Jafari, 2017) donde al evaluar el efecto antifúngico del MTA Fillapex y el cemento resinoso AH-

26 encontró que al aplicar el método directo el MTA Fillapex fue significativamente menor que el AH-26, sin embargo, al utilizar el método indirecto la actividad antifúngica de ambos materiales fue similar.

Debido al uso versátil y a las propiedades favorables del MTA, en los últimos años se han introducido nuevos materiales en el tratamiento endodóntico cuyo componente principal está basado en el silicato de calcio. El primer sellador endodóntico de esta nueva clase fue introducido en el año 2007 bajo el nombre de iRoot SP (Innovative Bioceramix, Vancouver, Canada) el cual presenta una composición muy similar al MTA (Donnermeyer, 2018), en una investigación (Nirupama, 2014) para determinar su efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* a través del test de contacto directo de encontró que este material tuvo una mejor eficacia antibacteriana frente a otros selladores endodónticos, sin embargo, frente a la *Cándida albicans* tuvo una efectividad moderada. Otro material endodóntico a base de silicato de calcio que busca mejorar algunas desventajas del MTA se presentó en el mercado bajo el nombre de EndoBinder (Binderware, Sao Carlos, SP, Brazil), según algunos reportes (Silva, 2014) presenta buena respuesta celular lo cual significa un mayor desarrollo de células en estado avanzado de diferenciación osteoblástica que la obtenida con el MTA, además de contar con menos reacción tisular. Al ser comparado con el MTA blanco respecto a sus propiedades antimicrobianas no mostró diferencias significativas, resultando igual de eficaz frente a *Enterococcus faecalis*, sin embargo, frente a la *Cándida albicans* el EndoBiner tuvo un menor efecto que el MTA a las 48 horas.

Los materiales a base de cemento Portland compuestos principalmente de silicato de calcio son en su mayoría muy similares al MTA, sin embargo, la aparición de nuevos cementos busca resolver algunas desventajas que este presenta, así por ejemplo para disminuir el tiempo de fraguado del MTA han aparecido materiales alternativos con una alta bioactividad

y osteogénesis mejorada, es el caso del cemento de silicato de calcio radiopaco (RDSC) cuya actividad antibacteriana frente al *Enterococcus faecalis* resultó similar al MTA, sin embargo, aunque manifiesta un comportamiento antibacteriano, este no resultó del todo completo (Wu, 2015).

Si bien se ha reconocido al *Enterococcus faecalis* como la bacteria responsable de los fracasos endodónticos, como se ha mencionado, la infección del conducto se manifiesta también por la presencia de una serie de microorganismos entre los que figuran la *Cándida albicans*, sobre todo en las infecciones persistentes debido a sus mecanismos de patogenicidad y virulencia.

Se ha descrito (Torabinejad, 1995) que las propiedades antifúngicas del MTA, se deben principalmente al elevado pH que presenta, el cual tiene un valor inicialmente de 10.2 que se eleva a 12.5 luego de tres horas después de mezclado. Es por ello necesario considerar el tiempo de fraguado del MTA, ya que este se presenta en un periodo relativamente largo de 3 horas, durante este tiempo, todavía se producen reacciones químicas del material mezclado, por lo que es necesario considerar ese intervalo en el cual podría no ser efectivo. Una de las primeras investigaciones posterior a la aparición del MTA para determinar su actividad antifúngica frente a *Cándida albicans* fue la realizada por (Al-Nazhan, 2003), quien concluye que este material presenta buena actividad antifúngica.

Otro estudio realizado por (Alsalleeh, 2014) evaluó la actividad antifúngica del Endosequence Root Repair Material (ERRM; Brasseler USA, Savannah, GA), el cual es un material a base de silicato de calcio similar al MTA que surge como alternativa a fin de dar solución a su elevado tiempo de fraguado anteriormente descrito, al enfrentarlo a la *Cándida albicans* y compararlo con el MTA blanco y MTA gris se evidenció que este nuevo material presenta valores equivalentes sobre todo a las 48 horas.

El MTA, respecto a su color, es comercializado en dos presentaciones, gris y blanco, este último se desarrolló para evitar la coloración dentaria producida por el MTA gris, si bien es cierto ambas presentaciones son muy similares en su composición y propiedades, algunas investigaciones han comparado y correlacionado sus efectos antifúngicos frente a *Cándida albicans* con su mínima concentración inhibitoria (Al-Hezaimi, 2006), en ese sentido se ha determinado que tanto el MTA blanco y el MTA gris en concentraciones de 50 mg/ml y 25 mg/ml son efectivos para eliminar la *Cándida albicans* de los conductos en un periodo de una semana, sin embargo, también se ha evidenciado que concentraciones más bajas de MTA gris son aún efectivos contra *Cándida albicans*, lo que no ocurre con el MTA blanco.

2.1.3.2.2 Usos clínicos del mineral trióxido agregado (MTA)

1. Recubrimiento pulpar directo

La tasa de éxito del recubrimiento pulpar directo en pulpas expuestas por caries o por perforaciones accidentales es muy variable en diferentes estudios, abarcando rangos del 30 a 80%. (Bjorndal et al, 2010). Tradicionalmente el hidróxido de calcio ha sido empleado como material de elección para esta técnica, sin embargo, con la aparición del MTA diversas investigaciones en animales (Faraco, 2001) y ensayos clínicos (Kundzina, 2017) han comparado estos materiales demostrando que la aplicación del MTA en técnicas de recubrimiento pulpar directo resultó más efectivo que el hidróxido de calcio.

2. Recubrimiento pulpar indirecto

Se han reportado algunos ensayos clínicos aleatorizados que emplean cementos de silicato de calcio (MTA y TheraCal LC) como recubrimiento pulpar indirecto en pacientes con dentición primaria (Marthur, 2016 & Menon, 2016) los cuales reportan un éxito clínico debido a la no evidencia de dolor ni signos radiográficos de reabsorción externa o interna, y

la presencia de un puente de calcificación. Sin embargo, algunos reportes de revisión (Parirokh, 2018) refieren que los estudios son aún escasos y los existentes no mencionan el nivel de actividad de caries, requiriendo además un periodo de evaluación mayor para determinar su eficacia en este tipo de tratamientos.

3. Reparación de perforaciones

La perforación de las paredes del conducto radicular puede presentarse durante el acceso cavitario, como consecuencia de la preparación del conducto radicular o producto de la reabsorción de los tejidos durante el avance de la caries dental. Una perforación coloca en riesgo el éxito del tratamiento endodóntico, es por ello que se debe considerar adecuadamente el material a utilizar para el reparo de dicha perforación a fin que logre un sellado óptimo. Diversos materiales se han empleado para este propósito, sin embargo, debido a su capacidad de sellado y biocompatibilidad se ha propuesto con mayor énfasis el empleo del MTA como material de reparación de perforaciones. Una revisión sistemática y meta análisis (Siew et al. 2015) determinó que el uso del MTA evidenció una mejor tasa de éxito, sin embargo, a pesar que los resultados de estudios comparativos de sellado de este material en pruebas in vitro ha sido exitoso, se requiere aún estudios con un nivel de evidencia mayor que confirmen su eficacia en pruebas clínicas a largo plazo.

4. Obturación retrógrada.

En un inicio la amalgama fue el material empleado en los procedimientos de sellado de obturación retrógrada, sin embargo, por su contenido de mercurio, microfiltración marginal y corrosión, esta fue reemplazada por el uso de Super EBA, el cual consiste en un material de óxido de zinc eugenol reforzado. (Ma, 2016). Recientemente el uso de materiales a base de silicato de calcio como el MTA ha tomado relevancia como material de obturación

retrógrada. Una reciente revisión de la literatura (Hosoya, 2019) recopila diversas investigaciones clínicas e in vitro concluyendo que al ser comparado con diversos materiales, el MTA resultó más efectivo y altamente biocompatible con los tejidos periapicales.

5. Pulpotomías

Las investigaciones analizadas en un extenso artículo de revisión (Parirokh, 2018) concluye que el MTA está asociado a un mayor éxito clínico comparado con otros materiales en el tratamiento de pulpotomía, sin embargo, se cuestiona la metodología de los estudios aplicados tanto en dentición permanente como decidua, además del corto tiempo de evaluación para evaluar el éxito clínico.

2.1.4 Nanopartículas de plata

La tecnología a escala nanométrica ha revolucionado diversas áreas de las ciencias y en la profesión odontológica ha significado la evolución de nuevos materiales con propiedades mejoradas. Las estructuras nanométricas comprenden aquellas que varían en un tamaño entre 1 a 100 nanómetros, siendo necesario considerar que estas tienen mayor ventaja frente a aquellos elementos no nanoparticulados ya que tienen una mayor relación superficie/volumen por unidad de masa, lo que produce que sean químicamente más reactivos (García-Contreras, 2011), además de evidenciarse mejoras en las propiedades ópticas, mecánicas, biológicas y eléctricas de los materiales dentales (Bapat, 2018). En la literatura científica se han estudiado las propiedades de diversas partículas a escala nanométricas, tanto metálicas y aquellas basadas en polímeros entre las que figuras las nanopartículas de oro, óxido de hierro, oro, óxido de cobre, dióxido de titanio, quitosan, zirconia y las nanopartículas de plata (Bapat, 2018), la cual es objeto de estudio en la presente investigación; los componentes mencionados han sido empleados en diversas disciplinas de la odontología como en

odontología restauradora y adhesiva, periodoncia, endodoncia, ingeniería de tejidos y resinas acrílicas, implantología y cáncer bucal (Şuhani, 2018 & Song, 2019).

Uno de los componentes más utilizados en los nanomateriales son las nanopartículas de plata, las cuales han sido introducidos en diversos aspectos de la industria de la salud y sobre todo en aquellos de uso médicos y biológicos, en las que se le ha conferido diversas aplicaciones como antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antiinflamatorias, anticancerígenas, antiangiogénicas, antitumorales, antioxidativas etc. (Zhang, 2016)

2.1.4.1 Actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata

La actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata se produce debido a la mayor superficie de contacto de las nanopartículas y su alta densidad de carga (Song, 2019). Entre los mecanismos propuestos para explicar el proceso de regulación antimicrobiana de las nanopartículas de plata en la cavidad bucal se encuentran la liberación de iones metálicos, el estrés oxidativo y los mecanismos no oxidativos; sin embargo, su acción microbicida más aceptada es aquella que se da por el contacto directo con la pared celular de la bacteria u hongo, ya que las nanopartículas al tener una carga positiva son atraídas electrostáticamente a la membrana celular microbiana cargada negativamente, esta interacción produce la permeabilidad de la pared celular y consiguiente ruptura y liberación de los organelos intracelulares provocando la lisis celular. (Bapat, 2018). En una reciente revisión de la literatura (Song, 2019) se menciona que los mecanismos de acción antibacteriana no son aún claros, sin embargo, describe tres principales puntos, por un lado que la actividad antimicrobiana se explica por la interacción de los peptidoglicanos de la pared y la membrana celular causando la lisis de la misma, interacción con las proteínas bacterianas al interrumpir su síntesis, y por último, la interacción con el ADN bacteriano a nivel citoplasmático interrumpiendo su replicación.

Los procesos mencionados explican las ventajas de las nanopartículas de plata frente a la terapia convencional, puesto que no se ven afectados por los mecanismos de resistencia a antibióticos, ya que actúan a través del contacto directo con la pared celular del microorganismo en lugar de penetrarla. (Bapat, 2018). En una revisión (Zhang, 2016), haciendo referencia a (Sondi y Salopek-Sondi) se mostró que las células de *Escherichia coli* tratadas con nanopartículas de plata, mostraron la acumulación de ésta en la pared celular además de la formación de fosas en la pared bacteriana, las cuales conllevaron a la muerte celular, además que las partículas más pequeñas con una mayor relación superficie-volumen mostraron una actividad antibacteriana más eficiente que las partículas más grandes. Como se ha mencionado, si bien el tamaño de las partículas influyen en su propiedad microbicida, también lo hacen el tipo y forma de las nanopartículas, los cuales se clasifican en esféricas, tubulares, varillas y planas (Shrestha, 2016). Estas propiedades antimicrobianas de los compuestos nanoparticulados de plata han sido aprovechados para ser incorporados en los polímeros usados como acondicionadores de tejido a fin de prevenir la estomatitis subprotésica inducida por microorganismos, del mismo modo añadidas en las dentaduras base de las prótesis acrílicas a fin de interferir en la adhesión y formación de biofilms de *Cándida albicans*, con resultados favorables (Li, 2016). En otros estudios las nanopartículas de plata han sido añadidos a las pastas dentales con el fin de actuar contra las principales bacterias cariogénicas, así (Ahmed, 2019) demostró una alta eficacia de los dentífricos asociados con nanopartículas de plata comparada con las pastas de uso convencional.

Aunque el uso de las nanopartículas de plata otorga propiedades benéficas a los materiales de uso odontológico, algunas investigaciones han reportado cierto grado de toxicidad debido a la presencia de iones de plata libres con carga positiva liberados en el medio (Noronha, 2017). Otra preocupación es aquella que sugiere la capacidad de las nanopartículas de atravesar la barrera hematoencefálica a través de mecanismos transinápticos y acumularse

finalmente en el cerebro, también se han reportado acúmulos de los mismos en el riñón e hígado (Wu, 2018). Sin embargo, esto dependerá del tipo, forma y cantidad de administración de las nanopartículas sobre todo en tratamientos que involucren la ingestión por vía oral para tratamientos sistémicos. Cuando la toxicidad de las nanopartículas de plata aplicadas a materiales restauradores odontológicos fue estudiada, no se evidenció efecto adverso alguno respecto a su biocompatibilidad, tal como lo demuestra (Zhang, 2013) quien estudió la biocompatibilidad de una resina con compuestos nanoparticulados de plata en células de fibroblastos gingivales humanos.

2.1.4.2 Aplicación de las nanopartículas de plata en endodoncia

Debido a que los materiales a base de silicato de calcio o cemento Portland utilizados en la terapia endodóntica y otras áreas de la odontología tienen un efecto antimicrobiano controversialmente limitado (Estrela, 2000) diversos autores han estudiado la adición de compuestos nanoparticulados con el fin de suplir estas carencias en diversas etapas del tratamiento, ya sea como irrigante endodóntico, material de obturación o medicación intraconducto, respecto a ello un estudio evidenció que la eficacia contra la formación de biofilm de *Enterococcus faecalis* dependió del modo de aplicación, siendo más eficiente al utilizar este compuesto como medicación intraconducto y no como irrigante durante la desinfección del canal (Wu, 2014), sin embargo, un reporte más reciente (De Almeida, 2018) al evaluar la eficacia del uso de las nanopartículas de plata como irrigante endodóntico y compararlo con procedimientos convencionales, reportó que a una concentración de 1% las nanopartículas de plata fueron tan efectivas como los irrigantes de uso común contra biofilms de *Enterococcus faecalis*. Otro estudio reciente (Chávez-Andrade, 2019), también exploró la actividad de las nanopartículas de plata recubiertas con alcohol polivinílico como irrigante endodóntico frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* y la capacidad de evitar la

adherencia del biofilm, además de compararla con un alcohol natural obtenido del propóleo, los resultados evidenciaron que las nanopartículas de plata mostraron efectividad antimicrobiana y capacidad antiadherente de biofilm. Estos resultados sugieren que los componentes pueden ser incorporados en los protocolos de irrigación, medicación intraconductos, selladores de conductos, entre otros.

En una investigación (Nam, 2017) se estudió la eficacia antimicrobiana de un nuevo cemento experimental compuesto de cemento Portland (tipo I, Hanil Cement Co., Seoul, Korea) asociado a nanopartículas de plata a diversas concentraciones frente a *Streptococo mutans* y *Streptococo sobrinus*, encontrando un efecto antimicrobiano favorable de esta asociación cuando se añadieron altas concentraciones de nanopartículas de plata (5.0%) .

En las lesiones endo-periodontales es importante el control de las infecciones microbianas, además de la reabsorción externa de la raíz, la cual conlleva a la perforación del conducto radicular. Las principales bacterias responsables de las lesiones endo-periodontales abarcan al *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Aggregatibacter* y *Prevotella*, por lo que el tratamiento incluye el uso de materiales que promuevan la regeneración ósea como los cementos a base de silicato de calcio a fin de reparar la perforación del conducto además del control de estos microorganismos; en esa línea, (Bahador, 2015) realizó una investigación con el fin de evaluar la eficacia antimicrobiana de un cemento a base de silicato de calcio (MTA) asociado a nanopartículas de plata frente a los principales microorganismos responsables de las lesiones endo-periodontales encontrando que esta combinación resultó efectiva frente a los patógenos anaerobios. por otro lado, (Halkai, 2018), también evaluó la eficacia de las nanopartículas de plata biosintetizadas a fin de actuar frente a los principales microorganismos responsables de infecciones endo-periodontales, entre los que figura el *Enterococcus faecalis*, a diferencia de otros estudios que evalúan la susceptibilidad de las bacterias en estado planctónico, este autor evaluó la eficacia de las nanopartículas frente a

biofilms bacterianos, los cuales son más difíciles de eliminar; sus resultados mostraron que las nanopartículas de plata biosintetizadas presentan actividad microbiana frente a los patógenos estudiados, por lo que las nanopartículas de plata constituyen una opción a fin de ser incorporados en irrigantes, como medicamento y sellador intraconducto y una alternativa en la terapia periodontal. El mismo autor, en otra investigación (Halkai, 2018), evaluó la eficacia antibacteriana del *Enterococcus faecalis* a través de una prueba de difusión agar utilizando diferentes concentraciones de los compuestos nanoparticulados de plata, encontrando que ésta a una concentración de 100 microlitros mostró una alta zona de inhibición, no habiendo diferencia significativa con los grupos comparativos de clorhexidina al 2% y el grupo de ampicilina.

Es conocido que la principal causa de periodontitis apical es la inflamación o necrosis de la pulpa la cual puede llevar incluso a la infección ósea, es por ello que una de las características ideales de los materiales de relleno del extremo de la raíz es generar un sellado que impida el paso de microorganismos además de poseer propiedades antimicrobianas que actúan frente a las cepas bacterianas presentes en la zona. Aunque los cementos a base de silicato de calcio como el MTA constituyen uno de los materiales con mejores propiedades, se hace necesario potenciar su efecto antimicrobiano, por ello que (Jonaidi-Jafari, 2016) evaluó la respuesta de la adición de nanopartículas de plata a dos cementos endodónticos frente 5 microorganismos entre los que se encontraban el *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* concluyendo que la adición de las nanopartículas a bajas concentraciones contribuyeron al incremento de la actividad antimicrobiana de los cementos estudiados.

Como se ha mencionado, la infección endodóntica está mediada por una serie de especies microbianas, y si bien en las infecciones secundarias predominan altamente las especies de *Enterococcus*, también cohabitan otras especies como las de *Cándida albicans*, las cuales cuentan con un grado de patogenicidad importante al ser capaces de formar biofilms, lo que

le provee su propiedad de resistencia ante el tratamiento convencional. Aunque la *Cándida albicans* es un microorganismo presente en las infecciones endodónticas, también es responsable de las infecciones de la epidermis y de la mucosa bucal, es por ello que en una investigación (Rónavári, 2018), entre otras propiedades, determinó la eficacia antimicótica de las nanopartículas de plata frente a una serie de especies fúngicas, determinando que ésta tuvo un efecto inhibitorio frente a todos los microorganismos, incluida la *Cándida albicans*, sin embargo, no se encontró actividad frente a la *Cándida tropicalis*.

La mayoría de los materiales de obturación de la sección final del conducto no proveen un sellado hermético del mismo, existiendo un espacio microscópico entre el material y el tejido dentario, pudiendo penetrar a través de esta interfaz las bacterias y sus productos, es por ello que el material ideal debe poseer actividad antimicrobiana frente a diversos agentes que pueden determinar el éxito o fracaso del tratamiento endodóntico. El mineral trióxido agregado cumple varias de las propiedades ideales de un material de obturación, sin embargo, su eficacia antimicrobiana es aún controversial, es por ello que algunas investigaciones han investigado la asociación de este cemento a base de cemento Portland a fin de asociarlo a nanopartículas de plata y estudiar su capacidad antimicrobiana. En una investigación (Samiei, 2013) comparó la eficacia del MTA asociado a nanopartículas de plata y sin asociación, para ello enfrentó ambos grupos frente a *Cándida albicans* y *Enterococcus faecalis* encontrando que el grupo que estuvo asociado a nanopartículas de plata tuvo una actividad antimicrobiana mayor.

Los selladores endodónticos permiten abarcar la compleja anatomía del conducto además de ocupar el espacio entre el material núcleo y la pared dentinaria, la mayoría de ellos posee ciertas propiedades antimicrobianas, las cuales, sin embargo; disminuyen después del fraguado o no son permanentes a través del tiempo (Baras, 2019), es por ello que en una reciente investigación (Baras, 2019) se propuso el desarrollo de un nuevo sellador de

conducto con propiedades antibiofilms mejoradas a través de la combinación de nanopartículas de plata y dimetilaminohexadecil metacrilato, los resultados mostraron que a una concentración de 5% de este último asociado a nanopartículas de plata al 0.15% evidenció una potente actividad antibiofilm sin alterar otras propiedades como fluidez, espesor y adhesividad. Otro estudio (Loyola-Rodríguez, 2019) al analizar diferentes selladores endodónticos, entre los que se encontraron el MTA y Siallapex, añadió nanopartículas de plata y chitosan, demostrando el incremento de la actividad antibacteriana de estos materiales frente a *Enterococcus faecalis* al ser evaluados a través de pruebas de difusión en agar y en pruebas de superficie en membrana colágena.

III. Método

3.1 Tipo de investigación:

- **Experimental in vitro:** Porque se manipuló en el laboratorio la variable “tipo de cemento” para observar un efecto (eficacia antimicrobiana), además de poseer un grupo control y la asignación de los grupos de estudio se realizó de manera aleatoria. (Hernández, Fernández y Baptista, 2014)
- **Prospectivo:** Porque los resultados se registraron en el tiempo conforme fueron ocurriendo. (Hernández, Fernández y Baptista, 2014)
- **Longitudinal:** Porque los resultados se registraron en tres diferentes periodos de tiempo (24, 48 y 72 horas). (Hernández, Fernández y Baptista, 2014)
- **Comparativo:** Porque se realizó el contraste de las medidas de los halos de inhibición de los cementos evaluados. (Hernández, Fernández y Baptista, 2014)

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

La población estuvo conformada por cepas de cultivos bacterianos y fúngicos de *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* respectivamente. Se establecieron los siguientes criterios de selección

Criterios de inclusión

- Réplicas activadas de cultivos confirmados de *Enterococcus faecalis*
- Réplicas activadas de cultivos confirmados de *Cándida albicans*

Criterios de exclusión

- Réplicas activadas de *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* con evidencia de contaminación de otro tipo de microorganismos

3.2.3 Muestra

Para establecer el tamaño de la muestra se ejecutó previamente un estudio piloto, a partir del 10% del tamaño de muestra del antecedente principal (Guerreiro-Tanomaru, 2012). Posterior a ella se empleó un análisis estadístico para la comparación de promedios, obteniéndose el tamaño de cada uno de los grupos de estudio mediante la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 * (S_1^2 + S_2^2)}{(X_1 - X_2)^2}$$

Donde:

n = Unidades de estudio necesarios en cada uno de los grupos

$Z_{(1-\alpha/2)} = 1.96$ (Nivel de confianza o seguridad)

$Z_{(1-\beta)} = 0.80$ (Coeficiente de potencia)

$S_1^2 = 0.7$ (Varianza de la variable del grupo prueba)

$S_2^2 = 0.5$ (varianza de la variable del grupo control)

$X_1 - X_2 = 1$ (Diferencia entre el grupo control y el grupo prueba)

Los resultados del cálculo de la muestra indicaron un valor de $n=9,42$; es decir $n=10$ muestras por cada grupo de estudio

Se establecieron 4 grupos de estudios:

Grupo 1: Agua destilada (Control negativo), $n=10$

Grupo 3: Cemento Portland sin nanopartículas de plata (Control positivo), $n=10$

Grupo 2: Cemento portland con nanopartículas de plata, $n =10$

Grupo 4: Mineral Trióxido Agregado (MTA), $n=10$

3.3 Operacionalización de variables

Variable Independiente

Cemento endodóntico

Variable Dependiente

Eficacia antimicrobiana

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Categoría o valores	Tipo	Escala
Cemento endodóntico (Variable independiente)	Material a base de silicato de calcio usado en el tratamiento endodóntico	Selección del cemento endodóntico	Tipo de cemento endodóntico	Cemento Portland sin nanopartículas de plata Cemento portland con nanopartículas de plata Mineral Trióxido Agregado	Cualitativa	Nominal politómica
Eficacia antimicrobiana (Variable dependiente)	Propiedad que tienen los materiales odontológicos de eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos	Tamaño de la inhibición microbiana en el agar	Medida del halo de inhibición registrado en milímetros (mm)	Eficacia antibacteriana frente a <i>Enterococcus faecalis</i> Eficacia antifúngica frente a <i>Cándida albicans</i>	Cuantitativa	Razón continua
Tiempo (Variable interviniente)	El tiempo es una magnitud física con que se mide la duración o separación de acontecimientos	Tiempo transcurrido desde la mezcla de los cementos estudiados	Número de horas transcurridos desde la mezcla de los cementos estudiados	24 horas 48 horas 72 horas	Cuantitativa	Razón continua

3.4 Instrumentos

Para el registro de la actividad antimicrobiana de los diferentes cementos a base de silicatos de calcio estudiados frente *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* se utilizó la observación como técnica de recolección de datos, contando como instrumento para la medición de los halos de inhibición un pie de rey digital. (Mitutoyo ®; Japón), (Anexo N°2).

3.5 Procedimientos

Todos los procedimientos fueron realizados en el Laboratorio de Investigación de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres.

(Anexo N° 4)

3.5.1 Técnica

Para establecer la actividad antibacteriana y antifúngica de los cementos estudiados frente a *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* se utilizó el método de difusión en agar – técnica de Kirby-Bauer, la cual es una de las técnicas más empleadas para este propósito (Koruyucu, 2015)

3.5.2 Cementos utilizados

Los cementos a base de silicato de calcio que se emplearán fueron los siguientes:

Cemento	Tipo	Marca y origen
Mineral trióxido agregado	Blanco	MTA Angelus® (Angelus, Londrina, Paraná Brasil)
Cemento Portland	Blanco	Comacsa ® S.A, Perú
Nanopartículas de plata	Polvo	Sigma Aldrich®, USA
Cemento Portland + Nanopartículas de plata	Polvo	Elaboración experimental propia

Para la preparación del polvo del cemento experimental se tomó como referencia los porcentajes estudiados por (Samiei, 2013) consistente en 99% de Cemento Portland + 1% de Nanopartículas de plata; esta distribución de porcentajes se realizó mediante una balanza analítica de precisión (Kern®, Alemania)

3.5.3 Procedimientos para el manejo de las cepas microbianas

3.5.3.1 Reactivación y replicación

A través de la empresa comercializadora Gen Lab del Perú S.A.C. se adquirió las cepas de *Enterococo faecalis* ATCC 29212 y *Cándida albicans* ATCC 90028, las cuales fueron reactivadas en el Laboratorio de Investigación de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres. Para garantizar la seguridad de los protocolos de la presente investigación y evitar la contaminación de las muestras, todos los procedimientos microbiológicos fueron realizados dentro de una cabina de bioseguridad (Angelantoni Biovan, Italia)

La reactivación de las cepas de *Enterococcus faecalis* fueron realizados en el medio de cultivo Agar Bilis Esculina, el cual fue incubado a 37°C por un lapso de 72 horas en condiciones aeróbicas. Por otro lado, las cepas de *Cándida albicans* fueron reactivadas en el medio de cultivo Agar Sabouraud por un lapso de 48 horas a 37°C.

Para la replicación de la cepas se preparó el medio Agar tripticasa soya (TSA) y Agar Saboraud (AS) para *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* respectivamente, previamente para realizar la prueba de esterilidad del medio y estar seguros de la ausencia de otros microorganismos contaminantes, ambos medios de cultivo fueron incubados a 37 °C por 24 horas, pasado ese tiempo, al no evidenciarse crecimiento de algún tipo de microorganismo sobre la superficie del agar, se procedió a obtener una muestra de colonias, tanto de *Enterococcus faecalis* como *Cándida albicans*, los cuales a través de un asa de siembra fueron sembrados en el medio Agar tripticasa soya por 24 horas y Agar Saboraud por 48 horas respectivamente, ambos a una temperatura de 37°C

3.5.3.2 Identificación de microorganismos

Para la identificación de *Cándida albicans* se empleó las siguientes pruebas:

- Coloración Gram
- Prueba del tubo germinativo
- Medio selectivo CHROMAgar-Candida

Para aplicar la prueba de coloración Gram, se colocó una fracción de agua destilada sobre una lámina portaobjetos, además, mediante un asa de siembra se colocó una porción de colonias de *Cándida albicans*, seguidamente se realizó el protocolo de tinción con la técnica Gram. Posteriormente la lámina portaobjetos fue llevada al microscopio óptico (Leica Microsystems DM500, Alemania) a 40X, esperándose observar células levaduriformes de forma oval con un tamaño de 3 a 5 micrómetros.

Para el ensayo de tubo germinativo, se colocó en 0.5 de suero de conejo un inóculo aislado de *Cándida albicans*, luego éste fue colocado en la incubadora por 3 horas a 37°C, posteriormente, como indicador confirmatorio, se observó bajo el microscopio (40X) los tubos germinativos a manera de filamentos que nacen de la levadura.

La prueba en medio selectivo CHROMAgar, consistió en la siembra de *Cándida albicans* en dicho medio de cultivo, el cual al incubarse a 37°C por 48 horas se observó la formación de colonias verde esmeralda de forma redondeada y elevadas, como prueba confirmatoria de *Candida albicans*

Como prueba identificatoria de *Enterococcus faecalis*, se empleó las siguientes pruebas:

- Ensayo de catalasa
- Coloración Gram
- Cultivo en medio selectivo de Agar bilis esculina

Para la prueba de Catalasa, se colocó una gota de peróxido de hidrógeno sobre una lámina porta objeto, seguidamente sobre éste se colocó un inóculo de *Enterococcus faecalis*. Debido

a que esta bacteria es catalasa negativa no se evidenció la formación de burbujas, la cual es un indicador identificador de *Enterococcus faecalis*.

Para la prueba de coloración Gram se colocó un inóculo de la bacteria junto a agua destilada sobre una lámina portaobjetos, seguidamente se aplicó la secuencia de tinción de coloración, para posteriormente llevar la muestra al microscopio óptico (100X), evidenciándose como confirmación de la presencia de esta bacteria, cocos Gram (+) agrupadas en parejas y en cadenas cortas.

En la prueba confirmatoria mediante el medio selectivo bilis esculina, se procedió a sembrar al *Enterococcus faecalis* en este medio y posteriormente se incubó a 37 °C por 48 horas. Para confirmar la presencia de esta bacteria, se esperó el cambio de color del medio de cultivo a un tono negruzco.

3.5.4 Procedimientos para someter a prueba la capacidad antimicrobiana de los cementos de estudio.

En el medio de cultivo Caldo tripticasa soya (TSB) se colocó los inóculos, tanto de *Enterococcus faecalis* como *Cándida albicans*, posteriormente fueron incubadas a 37°C por 24 horas, la turbidez del mismo fue ajustada a través de un espectrofotómetro (Thermo Scientific- Genesys, USA) a 0.085 UA (Unidades de absorbancia) utilizando una longitud de onda de 660 nanómetros, lo que corresponde a 1.0×10^7 UFC/ml, después de diluciones seriadas, equivalente a 0.5 de la escala de Mc Farland.

La prueba antimicrobiana de los cementos frente a los microorganismos de estudio se realizará en agar Müller-Hinton para *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*, añadiendo al medio de cultivo de este último, glucosa al 2% y azul de metilo.

Seguidamente, una vez preparado los agares, se extrajo con una micropipeta 100 microlitros de los inóculos de ambos microorganismos, seguidamente éste fue extendido a lo largo de la superficie de los medios de cultivo mediante un asa digralsky.

Posterior al sembrado de los microorganismos las placas petri fueron divididas en cuatro cuadrantes; en el centro de cada una de ellas mediante un sacabocado estéril de 6 mm de diámetro se crearon agujeros de las mismas dimensiones en el agar, los cuales albergaron los cementos de estudio.

Los 3 cementos de estudio (Cemento Portland sin nanopartículas de plata, Cemento Portland con nanopartículas de plata y MTA) fueron preparados según las instrucciones del fabricante, conteniendo el mismo volumen y en condiciones de esterilidad; los mismos fueron colocados en los orificios creados en el agar. Como grupo control en uno de los agujeros se colocó agua destilada. Seguidamente todas las placas fueron llevadas a una incubadora a 37°C a fin de ser evaluadas a las 24, 48 y 72 horas.

Las mediciones de los halos de inhibición fueron realizadas por tres examinadores a través de un pie de rey digital (Mitutoyo ®), el valor final de cada medición se obtuvo a partir del promedio del registro de los tres examinadores, los cuales fueron previamente calibrados utilizando el análisis de coeficiente de correlación intraclase (CCI): interexaminador (CCI: 0,93 IC95% 0,75 – 0,98) e intraexaminador (CCI: 0,94 IC95% 0,85 – 0,98).

3.6 Análisis de datos

Las medidas obtenidas fueron registradas en una base de datos creados en el software Excel 2019, el cual fue exportado al paquete estadístico SPSS V. 25.0 para su análisis. Los datos se presentaron en gráficos y tablas, enumerados según los objetivos del estudio.

El análisis descriptivo se realizó a través de tablas donde se consideró la media, desviación estándar, los valores máximos y mínimos, además de los límites superior e inferior.

Asimismo, se emplearon gráficos de caja y bigotes para la descripción de las variables de estudio.

Para el contraste de hipótesis se realizó previamente la prueba de distribución normal a través del test de Shapiro-Wilk (Anexo 5), seguido de la Prueba de Levene para verificar la homogeneidad de varianzas, encontrándose que los datos tuvieron distribución normal y varianzas homogéneas. Por ello, se decidió aplicar la prueba paramétrica de ANOVA para el contraste de hipótesis, con la prueba de ajuste de Tukey para comparaciones múltiples. Para comparar los tiempos (24, 48 y 72 horas) intragrupos se empleó la prueba ANOVA para medidas repetidas y el test de comparación múltiple de Tukey. En todas las pruebas se empleó un nivel de confianza de 95% y un error tipo I al 5%.

3.7 Consideraciones éticas

Al ser un estudio in vitro y al no haberse empleado tejidos humanos o animales, la investigación realizada no contempla consideraciones de aspecto ético.

IV. Resultados

4.1. Análisis descriptivo

Tabla 1. Eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente al *Enterococcus faecalis*.

Grupo	Tiempo	Media	IC 95 %		DE	Mínimo	Máximo
			Li	Ls			
Cemento Portland sin nanopartículas de plata	24h	16.5	15.9	17.0	0.78	15.2	17.6
	48h	16.9	16.2	17.6	0.96	15.2	18.4
	72h	17.0	16.1	17.9	1.27	15.3	19.6
Cemento Portland con nanopartículas de plata	24h	14.1	13.4	14.7	0.87	12.3	15.4
	48h	19.7	18.7	20.7	1.37	17.3	21.7
	72h	18.3	16.6	20.0	2.3	14.7	21.2
Mineral Trióxido Agregado	24h	14.6	13.7	15.5	1.25	12.5	16.4
	48h	15.2	14.4	15.9	1.08	13.3	16.9
	72h	15.4	14.4	16.3	1.31	13.7	17.9

Figura 1. Eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente al *Enterococcus faecalis*.

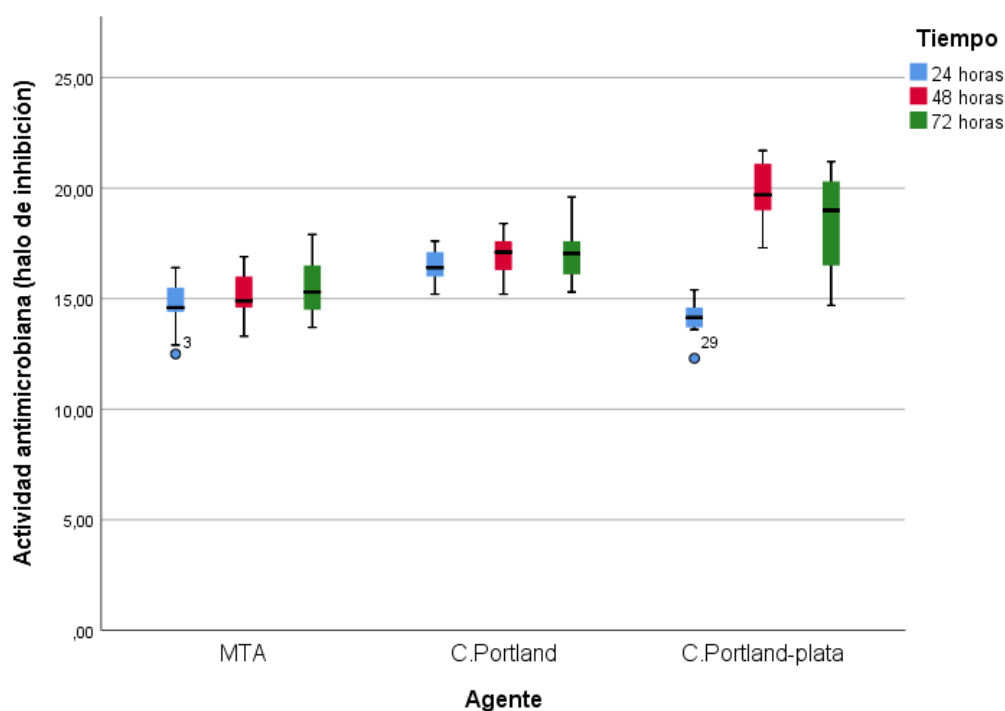
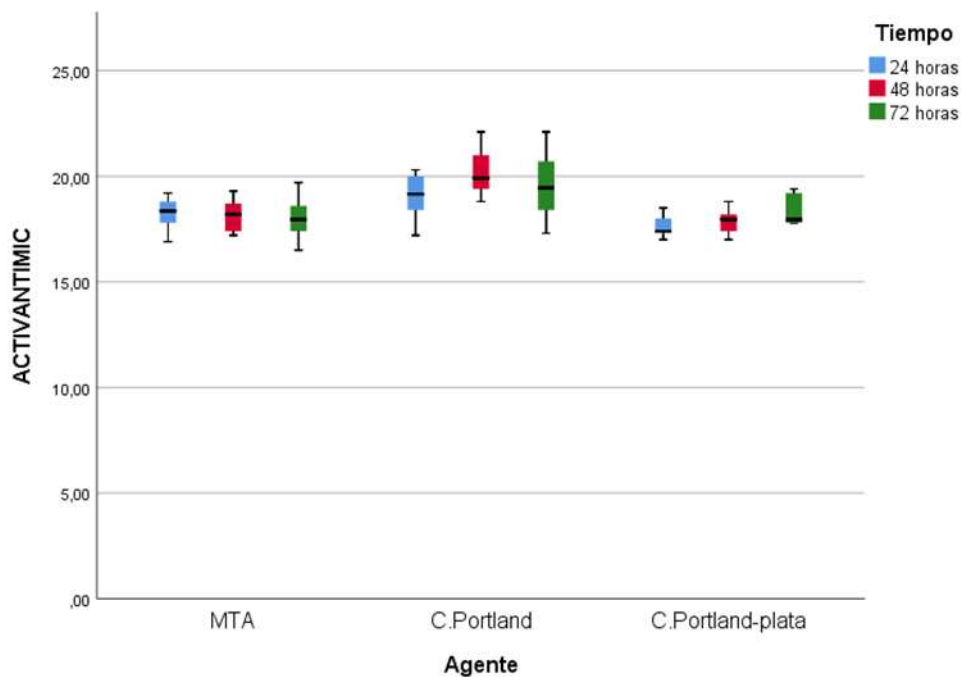


Tabla 2. Eficacia antifúngica del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente al *Candida albicans*.

Grupo	Tiempo	Media	IC 95 %		DE	Mínimo	Máximo
			Li	Ls			
Cemento Portland sin nanopartículas de plata	24h	19.1	18.3	19.8	1.01	17.2	20.3
	48h	20.1	19.3	20.9	1.07	18.8	22.1
	72h	19.6	18.5	20.6	1.48	17.3	22.1
Cemento Portland con nanopartículas de plata	24h	17.6	17.2	17.9	0.45	17.0	18.5
	48h	17.8	17.4	18.2	0.53	17.0	18.8
	72h	18.3	17.8	18.8	0.68	17.8	19.4
Mineral Trióxido Agregado	24h	18.2	17.7	18.7	0.68	16.9	19.2
	48h	18.1	17.6	18.7	0.74	17.2	19.3
	72h	18.0	17.2	18.7	0.98	16.5	19.7

Figura 2. Eficacia antifúngica del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente a *Candida albicans*.



4.2 Contrastación de hipótesis

Tabla 3. Comparación de la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis*, tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.

Grupos	Tiempo	p-valor ^a	1 vs 2	1 vs 3 p-valor ^b	2 vs 3
Cemento Portland sin nanopartículas de plata (1)	24 horas	0.000*	0.000*	0.001*	0.481
Cemento Portland con nanopartículas de plata (2)	48 horas	0.000*	0.000*	0.007*	0.000*
Mineral Trióxido Agregado (3)	72 horas	0.003*	0.235	0.108	0.002*

^a ANOVA para muestras independientes; ^b Prueba Post Hoc-HSD de Tukey; *Significativo (p<0,05)

Tabla 4. Comparación de la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis* entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.

Grupos	Tiempo	p-valor ^a	A vs B	A vs C P – valor ^b	B vs C
Cemento Portland sin nanopartículas de plata	24 h (A)	0.465	0.650	0.441	0.936
Cemento Portland con nanopartículas de plata	48 h (B)	0.0001*	0.000*	0.000*	0.174
Mineral Trióxido Agregado	72 h (C)	0.3787	0.570	0.326	0.900

^a ANOVA para medidas repetidas; ^b Comparación múltiple de Tukey intragrupo; *Significativo (p<0,05)

Tabla 5. Comparación de la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a *Candida albicans*, tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.

Grupos	Tiempo	p-valor ^a	1 vs 2	1 vs 3 p-valor ^b	2 vs 3
Cemento Portland sin nanopartículas de plata (1)	24 horas	0.001*	0.000*	0.052	0.142
Cemento Portland con nanopartículas de plata (2)	48 horas	0.000*	0.000*	0.000*	0.658
Mineral Trióxido Agregado (3)	72 horas	0.008*	0.046*	0.008*	0.747

^a ANOVA para muestras independientes; ^b Prueba Post Hoc-HSD de Tukey; *Significativo (p<0,05)

Tabla 6. Comparación de la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a *Candida albicans* entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.

Grupos	Tiempo	p-valor ^a	A vs B	A vs C P – valor ^b	B vs C
Cemento Portland sin nanopartículas de plata	24 h (A)	0.1642	0.156	0.640	0.583
Cemento Portland con nanopartículas de plata	48 h (B)	0.0081*	0.592	0.019*	0.149
Mineral Trióxido Agregado	72 h (C)	0.773	0.967	0.724	0.861

^a ANOVA para medidas repetidas; ^b Comparación múltiple de Tukey intragrupo; *Significativo (p<0,05)

4.3 Análisis e interpretación

Análisis descriptivo

Cuando se evaluó la actividad inhibitoria frente al *Enterococcus faecalis*: En el cemento Portland sin nanopartículas de plata se observó que el halo de inhibición incrementaba conforme transcurría el tiempo. Iniciando con una media de 16.5 mm a las 24 horas hasta llegar a los 17 mm a las 72 horas. Además, se encontró que la eficacia antibacteriana del cemento Portland con nanopartículas de plata frente al *Enterococcus faecalis* tuvo una medida inicial a las 24 horas de 14.1 mm, valor que tuvo su mayor aumento a las 48 horas (19.7 mm) para posteriormente disminuir la medida a las 72 horas (18.3mm). Se observó también que el halo de inhibición a las 24 horas del Mineral Trióxido Agregado fue ligeramente menor (14.6 mm) que a las 48 y 72 horas, siendo mínima la diferencia de la medida entre estos dos últimos. **(Tabla 1).**

Cuando se evaluó la actividad inhibitoria frente a *Candida albicans*: El halo de inhibición del cemento Portland sin nanopartículas de plata registró una medida inicial a las 24 horas de 19.1 mm, valor que tuvo su mayor incremento a las 48 horas (20.1 mm) para posteriormente disminuir su medición a las 72 horas (19.6 mm). Además se evidenció un aumento constante de las medidas de los halos de inhibición a las 24 horas (17.6 mm), 48 horas (17.8 mm) y a las 72 horas (18.3 mm) cuando la *Cándida Albicans* fue confrontada con el cemento Portland con nanopartículas de plata. Por el contrario, hubo una ligera disminución progresiva del halo de inhibición a las 24 horas (18.2 mm), 48 horas (18.1 mm) y 72 horas (18.0 mm) cuando se evaluó la actividad antifúngica del Mineral Trióxido Agregado. **(Tabla 2)**

Análisis inferencial

Se realizaron comparaciones múltiples de la eficacia antibacteriana del cemento Portland sin nanopartículas de plata, cemento Portland con nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis*, observándose que a las 24 horas hubo diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos evaluados, siendo las diferencias entre el cemento Portland sin y con nanopartículas de plata, las de más alta significancia ($P=0.000$). Asimismo, cuando se comparó al MTA con el cemento Portland con nanopartículas de plata, a pesar de existir diferencias significativas, esta fue débil ($p=0.481$).

A las 48 horas, al realizar la comparación entre los agentes cementantes estudiados, se observó que hubo diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos evaluados, siendo, a través de una prueba Post-Hoc, las diferencias entre el cemento Portland sin y con nanopartículas de plata de alta significancia ($p=0.000$). Cuando se comparó al MTA con el cemento Portland con nanopartículas de plata se encontró también alta diferencia estadísticamente significativa ($p=0.000$). Al compararse el cemento Portland sin nanopartículas de plata con el MTA, a pesar de existir altas diferencias significativas, esta fue ligeramente menor que los grupos anteriormente descritos ($p=0.007$).

A las 72 horas se observó que hubo diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos evaluados ($p=0.003$), encontrándose, a través de una prueba Post-Hoc, que no hubo diferencias entre el “cemento Portland sin y con nanopartículas de plata ($p=0.235$). Del mismo modo, no se encontró diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó al MTA con el cemento Portland sin nanopartículas de plata ($p=0.108$). Al compararse el cemento Portland con nanopartículas de plata

con el MTA, se encontraron diferencias altamente significativas entre esos dos grupos ($p=0.002$) (**Tabla 3**)

En el análisis de comparaciones múltiples de la eficacia antibacteriana del cemento Portland sin nanopartículas de plata, cemento Portland con nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Enterococcus faecalis*, entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado. Se observó que no hubo diferencias estadísticamente significativas en los tres tiempos evaluados (24, 48 y 72 horas) tanto en el grupo de cemento Portland sin nanopartículas de plata y el grupo de Mineral Trióxido Agregado ($p=0.465$ y $p=0.3787$, respectivamente). El único grupo en el que se evidenció diferencias significativas entre los tres tiempos fue el cemento Portland con nanopartículas de plata ($p=0.0001$) puesto que la medición realizada a las 24 horas fue significativamente diferente al de las 48 y 72 horas de sembrado. (**Tabla 4**)

Se realizaron comparaciones múltiples de la eficacia antifúngica del cemento Portland sin nanopartículas de plata, cemento Portland con nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Cándida albicans*. Observándose que:

A las 24 horas de sembrado hubo diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos evaluados ($p=0.001$), siendo las diferencias entre el cemento Portland sin y con nanopartículas de plata el único grupo de comparación en el que se encontraron diferencias altamente significativas ($p=0.000$). Cuando se comparó al MTA con el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los dos grupos de comparación ($p=0.142$, $p=0.052$ respectivamente).

A las 48 horas de sembrado, al realizar la comparación entre los agentes cementantes estudiados, se observó que hubo diferencias altamente significativas entre todos los grupos evaluados ($p=0.000$), Encontrándose a través de una prueba Post-Hoc que el cemento Portland sin y con nanopartículas de plata tuvieron diferencias altamente significativas ($p=0.000$); similar resultado se evidenció cuando se comparó el grupo MTA con el cemento Portland sin nanopartículas de plata ($p=0.000$). Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas cuando se comparó el MTA con el cemento Portland con nanopartícula de plata ($p=0.658$).

A las 72 horas de sembrado al realizar la comparación entre los agentes cementantes estudiados, se observó que hubo diferencias significativas entre todos los grupos evaluados ($p=0.008$), Encontrándose a través de una prueba Post-Hoc que el grupo que presentó diferencias altamente significativas fue el MTA cuando se comparó con el cemento Portland sin nanopartículas de plata. Aunque hubo significancia estadística entre los grupos de cemento portland con y sin nanopartículas de plata, esta fue débil ($p=0.046$) (**Tabla 5**)

En el análisis de comparaciones múltiples de la eficacia antifúngica del cemento Portland sin nanopartículas de plata, cemento Portland con nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente al *Cándida albicans*, entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado se observó que hubo diferencias estadísticamente significativas en los tres tiempos evaluados (24, 48 y 72 horas) sólo en el grupo de cemento Portland con nanopartículas de plata ($p=0.0081$). En este mismo grupo, a través de una prueba estadística Post - Hoc se evidenció que no hubo diferencias significativas entre las 24 horas con el de las 48 horas; del mismo modo, no hubo diferencias entre las 48 horas con el de 72 horas. Sin embargo, sí hubo diferencias entre las 24 horas y 72 horas ($p=0.019$) (**Tabla 6**)

V. Discusión de resultados

El estudio se enfocó en evaluar la eficacia antimicrobiana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata añadidas, a fin de mejorar sus propiedades antimicrobianas y proponer un sustituto que tenga iguales o mejores propiedades que el Mineral Trióxido Agregado. Los resultados mostraron que en general, tanto el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata no difieren de la actividad antimicrobiana del MTA.

Diversas investigaciones han reportado que el cemento Portland presenta componentes similares al MTA (Estrela, 2000; Funteas, 2003; Oliveira, 2007; Hwang 2009) considerándolo como un posible sustituto a fin de hacer económicamente más accesible su uso en la práctica clínica. En la mayoría de los estudios comparativos de biocompatibilidad y de propiedades físico-químicas el cemento Portland resultó muy similar al MTA (Hwang, 2009; Bramante, 2013; Mangala, 2015; Qutieshat, 2019; Dorileo, 2014; Islam, 2006); del mismo modo, Tanomaru-Filho, 2007 & Guerreiro Tanomaru, 2014 al evaluar sus propiedades antimicrobianas, tanto frente a *Candida albicans* como *Enterococcus faecalis*, no encontraron diferencias entre estos dos cementos a base de silicato de calcio; estas conclusiones difieren con los resultados de nuestra investigación donde en la mayoría de los casos, independientemente de los microorganismos estudiados, hubo diferencias significativas entre el cemento Portland y el MTA, presentando el cemento Portland promedios de halos de inhibición más altos que los del MTA en todos los tiempos evaluados; estos resultados se asemejan a los encontrados por Yousra, 2019, quien reportó medidas del diámetro del halo de inhibición del cemento Portland muy superiores a los del MTA cuando los expuso a cultivos de *Enterococcus faecalis*, siendo estas diferencias muy significativas. Es importante señalar que, en las investigaciones, incluido el presente estudio, en las que evaluaron al cemento Portland y al MTA a través del método de difusión en Agar, ambos presentaron un halo

de inhibición mucho mayor frente a *Candida albicans* que al *Enterococcus faecalis*; esto probablemente debido a una mayor susceptibilidad de la *Cándida albicans* frente a valores de pH muy alcalinos (Tanomaru-Filho, 2007). Estos resultados guardan relación con lo descrito por (Weckwerth, 2012) quien no encontró actividad microbiana inhibitoria del cemento Portland frente a *Enterococcus faecalis*, pero sí frente a *Candida albicans*.

Si bien es cierto, los cementos a base de silicato de calcio como el MTA y el cemento Portland presentan actividad antimicrobiana frente a hongos y bacterias, algunos reportes mencionan que tiene un efecto limitado (Torabinejad, 2015; Shin, 2017; Morgental, 2011; Khedmat et al., 2018 & Dalmia, 2018), es por ello que para mejorar las propiedades antimicrobianas del cemento Portland y el MTA, se ha propuesto la adición de nanopartículas de plata evaluada en diferentes momentos, ya que algunos reportes mencionan que en general, algunos compuestos químicos bajo el método de difusión en agar no conservan su efectividad antimicrobiana en el tiempo (Cayo, 2020). Cabe precisar que la acción antimicrobiana de las nanopartículas de plata se debe a que presenta una mayor superficie y reactividad química, que el presentar diferencias de cargas iónicas con la superficie del microorganismo, produce una ruptura de la membrana haciéndola permeable con el consiguiente ingreso de las nanopartículas al citoplasma, produciendo la lisis celular (Shrestha & Kishen, 2016; Song, 2017; Bapat, 2018)

En el presente estudio cuando se comparó la efectividad antimicrobiana del cemento Portland sin nanopartículas de plata con el cemento Portland con nanopartículas de plata frente *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*; en casi todos los casos hubo diferencias significativas, alcanzando el cemento Portland sin nanopartículas de plata un mayor halo de inhibición, a excepción de las 48 horas posterior al sembrado del grupo

de *Enterococcus faecalis* donde el mayor halo de inhibición fue el generado por el cemento Portland con nanopartículas de plata. Estos resultados son semejantes a lo reportado por Yousra, 2019, quien al estudiar la eficacia antimicrobiana a las 24 horas frente a *Enterococcus faecalis* también evidenció que el cemento Portland sin nanopartículas de plata tuvo un diámetro significativamente mayor que aquel que poseía las nanopartículas, sin embargo, no incluyó, a diferencia del presente estudio, la evaluación a las 48 y 72 horas. Por el contrario, Vazquez-Garcia en el 2016 no encontró diferencias significativas cuando en su estudio comparó el cemento Portland sin nanopartículas de plata y el cemento Portland con nanopartículas de plata, ambos conteniendo óxido de zirconio como radiopacificador, frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, reportando que ambos cementos fueron altamente eficaces frente a las cepas bacterianas luego de 48 horas de fraguados.

El MTA en el presente estudio fue considerado como un patrón de oro, teniendo como intención proponer un material con similares o mejores propiedades antimicrobianas, es por ello que se propuso al cemento Portland con nanopartículas de plata como un posible sustituto a fin de mejorar su eficacia antimicrobianas. Al comparar los dos cementos mencionados en la presente investigación, se evidenció que el cemento Portland con nanopartículas de plata presentó halos de inhibición significativamente mayores que el MTA a las 48 y 72 horas frente a *Enterococcus faecalis*, sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre estos dos cementos frente a *Candida albicans*. Los resultados del presente estudio son parcialmente semejantes a lo reportado por (Yousra, 2019), donde el cemento Portland con nanopartículas de plata presentó mayor actividades antibacteriana que el MTA frente a *Enterococcus faecalis*. Por el contrario, en otra investigación (Vazquez-Garcia, 2016), utilizando un test de contacto directo y a través de cultivos de biofilms orales de *Enterococcus faecalis*, encontró que

hubo diferencias entre el cemento Portland con nanopartículas de plata comparado con el MTA, sin embargo, y contrario a nuestros resultados, los valores de actividad antibacteriana fueron mayores en el MTA. Estas discrepancias entre los resultados pueden deberse a las diferencias metodológicas para evaluar la actividad antimicrobiana, puesto que, aunque el método de difusión en agar, utilizado en la presente investigación, es una de las técnicas más empleadas para evaluar la efectividad antimicrobiana de diversos cementos odontológicos. (Tanomaru-Filho et al., 2007), ésta presenta algunas desventajas como la imposibilidad de distinguir los efectos bactericidas y bacteriostáticos de los agentes evaluados, además, el diámetro de los halos que presenten no solo es atribuible al efecto inhibitorio del material, sino también a la capacidad de difusión del cemento a través del medio (Samiei et al., 2013). Por tal motivo, es importante considerar la metodología de los estudios a fin de comparar los resultados, ya que en la actualidad existen también otras técnicas para determinar la efectividad antimicrobiana de diversos materiales de uso dental (Bahador, 2015).

Los resultados de este estudio permiten aportar más evidencia sobre la similitud en la eficacia antimicrobiana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata comparado con el MTA y proponer un sustituto a este, económicamente más accesible y de eficacia similar.

Debido a las limitaciones metodológicas del presente estudio, es recomendable abordar líneas de investigación de los materiales estudiados con técnicas de impliquen la evaluación de la actividad antimicrobiana en biofilms orales multiespecies, a fin de recrear in vitro de manera más precisa el complejo sistema de colonización bucal.

VI. Conclusiones

- El valor mayor de la media del halo de inhibición del cemento Portland sin y con nanopartículas de plata y el MTA frente al *Enterococcus faecalis* fue respectivamente 17 mm (72 horas), 19.7 (48 horas) y 15.4 (72 horas)
- El valor mayor de la media del halo de inhibición del cemento Portland sin y con nanopartículas de plata y el MTA frente a *Candida albicans* fue respectivamente 20.1 mm (48 horas), 18.3 (72 horas) y 18.2 (24 horas)
- En la medida del halo de inhibición frente a *Enterococcus faecalis* al compararse todos los cementos de estudio en todos los tiempos, hubo diferencias estadísticamente significativas, excepto cuando se comparó el cemento Portland con nanopartículas de plata frente a MTA (24 horas), Cemento Portland con y sin nanopartículas de plata (72 horas) y cemento Portland con nanopartículas de plata frente al MTA (72 horas)
- En la medida del halo de inhibición frente a *Enterococcus faecalis* al compararse todos los tiempos de estudio en todos los cementos, hubo diferencias estadísticamente significativas sólo entre las 24 y 48 horas y entre las 24 y 72 horas en el cemento Portland con nanopartículas de plata
- En la medida del halo de inhibición frente a *Candida albicans* al compararse todos los cementos de estudio en todos los tiempos, hubo diferencias estadísticamente significativas, excepto cuando se comparó el cemento Portland sin nanopartículas de plata frente a MTA (24 horas) y el cemento Portland con nanopartículas de plata frente a MTA en todos los tiempos (24, 48 y 72 horas).
- En la medida del halo de inhibición frente a *Candida albicans* al compararse todos los tiempos de estudio en todos los cementos, hubo diferencias estadísticamente

significativas sólo entre las 24 y 72 horas en el cemento Portland con nanopartículas de plata

VII. Recomendaciones

- Se recomienda utilizar un mayor tamaño de muestra por cada uno de los grupos de estudio a fin de hacer más precisa la significancia estadística entre los grupos comparados.
- Se recomienda incorporar un grupo de estudio experimental comparativo donde se evalúe la eficacia antibacteriana y antifúngica del MTA con nanopartículas de plata.
- Se recomienda realizar un estudio de actividad microbiana de los agentes cementantes estudiados sobre cultivos de biofilms orales mono especie y multiespecie.
- Se recomienda evaluar la actividad antimicrobiana de los cementos estudiados en la presente investigación con la adición de agentes radiopacificadores para acercarse a un material ideal de uso clínico.
- Se recomienda estudiar la actividad antimicrobiana de diversas proporciones de nanopartículas de plata añadidas al cemento Portland.
- Se recomienda evaluar las propiedades físicas y de biocompatibilidad de los cementos estudiados en la presente investigación.
- Se recomienda realizar ensayos clínicos donde evalúen la eficacia del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata asociados.

VIII. Referencias

- Ahmed, F., Prashanth, S. T., Sindhu, K., Nayak, A., & Chaturvedi, S. (2019). Antimicrobial efficacy of nanosilver and chitosan against *Streptococcus mutans*, as an ingredient of toothpaste formulation: An *in vitro* study. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 37(1), 46–54. doi:10.4103/JISPPD.JISPPD_239_18
- Al-Hezaimi, K., Naghshbandi, J., Oglesby, S., Simon, J. H., & Rotstein, I. (2006). Comparison of antifungal activity of white-colored and gray-colored mineral trioxide aggregate (MTA) at similar concentrations against *Candida albicans*. *Journal of endodontics*, 32(4), 365–367. doi:10.1016/j.joen.2005.08.014
- Al-Nazhan, S., & Al-Judai, A. (2003). Evaluation of antifungal activity of mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*, 29(12), 826–827. doi:10.1097/00004770-200312000-00010
- Alsalleeh, F., Chung, N., & Stephenson, L. (2014). Antifungal activity of endosequence root repair material and mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*, 40(11), 1815–1819. doi:10.1016/j.joen.2014.08.002
- AlShwaimi, E., Bogari, D., Ajaj, R., Al-Shahrani, S. Almas, K., & Majeed A. (2016). In Vitro Antimicrobial Effectiveness of Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis*: A Systematic Review. *Journal of Endodontics*, 42(11), 1588-1597. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.08.001>
- Asgary, S., Eghbal, M., Parirokh, M., Ghodduzi, J., Kheirieh, S., & Brink, F. (2009). Comparison of mineral trioxide aggregate's composition with Portland cements and a new endodontic cement. *Journal of Endodontics*, 35(2), 243-50. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.10.026>
- Asgary, S., Parirokh, M., Eghbal, M., & Brink, F. (2004). A comparative study of white mineral trioxide aggregate and white Portland cements using X-ray microanalysis. *Australian Endodontic Journal*, 30(3), 89-92. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2004.tb00416.x>
- Bahador, A., Pourakbari, B., Bolhari, B., & Hashemi, F. (2015). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of nanosilver-mineral trioxide aggregate against frequent anaerobic oral pathogens by a membrane-enclosed immersion test. *Biomedical Journal*, 38(1),77-83. doi: <http://dx.doi.org/10.4103/2319-4170.132901>
- Bakland, L. K., & Andreasen, J. O. (2012). Will mineral trioxide aggregate replace calcium hydroxide in treating pulpal and periodontal healing complications subsequent to dental trauma? A review. *Dental traumatology : official publication*

- of International Association for Dental Traumatology, 28(1), 25–32. doi:10.1111/j.1600-9657.2011.01049.x
- Bapat, R., Chaubal, T., Joshi, C., Bapat, P., Choudhury, H., Pandey, M., Gorain, B., & Kesharwani P. (2018) An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. *Materials Science and Engineering*, 91:881-898. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.05.069>
- Bapat, R., Joshi, C., Bapat, P., Chaubal, T., Pandurangappa, R., Jnanendrapa, N., Gorain, B., Khurana, S., & Kesharwani, P. (2019) The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. *Drug Discov Today*. 24(1),85-98. doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.08.012>.
- Baras, B. H., Melo, M., Sun, J., Oates, T. W., Weir, M. D., Xie, X., ... Xu, H. (2019). Novel endodontic sealer with dual strategies of dimethylaminohexadecyl methacrylate and nanoparticles of silver to inhibit root canal biofilms. *Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials*, 35(8), 1117–1129. doi:10.1016/j.dental.2019.05.014
- Barge, S. (2013) Enterococcus Faecalis Endogenous Endophthalmitis from Valvular Endocarditis. *Case Rep Ophthalmol Med*, 174869. doi: <https://doi.org/10.1155/2013/174869>.
- Baumgartner, J.C., Siqueira, J.F., Xia T., & Rocas, I.N (2004) Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction. *Journal of Endodontics* 30, 141-144 <https://doi.org/10.1097/00004770-200403000-00004>
- Bernal-Treviño, A., González-Amaro, A. M., Méndez González, V., & Pozos-Guillen, A. (2018). Frecuencia de Candida en conductos radiculares de dientes con infección endodóntica primaria y persistente [Frequency of Candida in root canals of teeth with primary and persistent endodontic infections]. *Revista iberoamericana de micología*, 35(2), 78–82. doi:10.1016/j.riam.2017.09.004
- Bjørndal, L., Reit, C., Bruun, G., Markvart, M., Kjaldgaard, M., & Nasman, P. (2010). Treatment of deep caries lesions in adults; randomized clinical trials comparing stepwise vs, direct complete excavation, and direct pulp capping vs, partial pulpotomy. *European Journal of Oral Science*, 118,290-297. doi: [10.1111/j.1600-0722.2010.00731.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2010.00731.x)
- Bramante, C. M., Kato, M. M., Assis, G. F., Duarte, M. A., Bernardineli, N., Moraes, I. G., ... Bramante, A. S. (2013). Biocompatibility and setting time of CPM-MTA and white Portland cement clinker with or without calcium sulfate. *Journal of applied oral science : revista FOB*, 21(1), 32–36. doi:10.1590/1678-7757201302200

- Camilleri, J. (2009) Evaluation of selected properties of mineral trioxide aggregate sealer cement. *Journal of Endodontics*, 35,1412-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.07.008>
- Camilleri J. (2010). Evaluation of the physical properties of an endodontic Portland cement incorporating alternative radiopacifiers used as root-end filling material. *International endodontic journal*, 43(3), 231–240. doi:10.1111/j.1365-2591.2009.01670.x
- Camilleri, J., Montesin, F. E., Di Silvio, L., & Pitt Ford, T. R. (2005). The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. *International endodontic journal*, 38(11), 834–842. doi:10.1111/j.1365-2591.2005.01028.x
- Cayo Rojas CF, Cervantes Ganoza LA. La actividad antibacteriana de Camellia sinensis comparada con propóleo frente al Streptococcus mutans. *Rev Cubana Estomatol*. 2020;57(1):e2967
- Chávez-Andrade, G. M., Tanomaru-Filho, M., Basso Bernardi, M. I., de Toledo Leonardo, R., Faria, G., & Guerreiro-Tanomaru, J. M. (2019). Antimicrobial and biofilm anti-adhesion activities of silver nanoparticles and farnesol against endodontic microorganisms for possible application in root canal treatment. *Archives of oral biology*, 107, 104481. doi:10.1016/j.archoralbio.2019.104481
- Chen, C., Hsieh, S. C., Teng, N. C., Kao, C. K., Lee, S. Y., Lin, C. K., & Yang, J. C. (2014). Radiopacity and cytotoxicity of Portland cement containing zirconia doped bismuth oxide radiopacifiers. *Journal of endodontics*, 40(2), 251–254. doi:10.1016/j.joen.2013.07.006
- Chu, F., Tsang, C., Chow, T., Samaranayake, L. (2005) Identification of cultivable microorganisms from primary endodontic infections with exposed and unexposed pulp space. *Journal of Endodontics*. 31, 424–429. <https://doi.org/10.1097/01.don.0000148149.27636.9c>
- Cohen, S., Hargreaves, K. (2006). *Pathways of the Pulp* (9na ed.). Barcelona: Mosby.
- Dalmia, S., Gaikwad, A., Samuel, R., Aher, G., Gulve, M., & Kolhe, S. (2018). Antimicrobial Efficacy of Different Endodontic Sealers against Enterococcus faecalis: An In vitro Study. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 8(2), 104–109. doi:10.4103/jispcd.JISPCD_29_18
- Dawood, A. E., Parashos, P., Wong, R., Reynolds, E. C., & Manton, D. J. (2017). Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. *Journal of investigative and clinical dentistry*, 8(2), 10.1111/jicd.12195. doi:10.1111/jicd.12195

- De Almeida, J., Cechella, B. C., Bernardi, A. V., de Lima Pimenta, A., & Felipe, W. T. (2018). Effectiveness of nanoparticles solutions and conventional endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research*, 29(3), 347–351. doi:10.4103/ijdr.IJDR_634_15
- Diogo, P., Fernandes, C., Caramelo, F., Mota, M., Miranda, I. M., Faustino, M., Neves, M., Uliana, M., Oliveira, K., Santos, Joao., & Gonçalves, T. (2017). Antimicrobial Photodynamic Therapy against Endodontic *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* Mono and Mixed Biofilms in the Presence of Photosensitizers: A Comparative Study with Classical Endodontic Irrigants. *Frontiers in microbiology*, 8, 498. doi:10.3389/fmicb.2017.00498
- Dioguardi, M., Di Gioia, G., Illuzzi, G., Laneve, E., Cocco, A., & Troiano G. (2018) Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. *European Journal Dental*, 12:459–466. doi: http://dx.doi.org/10.4103/ejd.ejd_56_18
- Donnermeyer, D., Bürklein, S., Dammaschke, T., & Schäfer, E. (2019). Endodontic sealers based on calcium silicates: a systematic review. *Odontology*, 107(4), 421–436. doi:10.1007/s10266-018-0400-3
- Dorileo, M. C., Villa, R. D., Guedes, O. A., Aranha, A. M., Semenoff-Segundo, A., Bandeca, M. C., & Borges, A. H. (2014). Comparative Analysis of Selected Physicochemical Properties of Pozzolan Portland and MTA-Based Cements. *International scholarly research notices*, 2014, 831908. doi:10.1155/2014/831908
- Duarte, M., Marciano, M., Vivan, R., Tanomaru Filho, M., Tanomaru, J., & Camilleri, J. (2018). Tricalcium silicate-based cements: properties and modifications. *Brazilian Oral Research*, 32(suppl 1), e70. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0070>
- Ducret, M., Fabre, H., Celle, A., Mallein-Gerin, F., Perrier-Groult, E., Alliot-Licht, B., & Farges, J.C. (2017). Current challenges in human tooth revitalization. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 28:S159–S168. doi: <http://dx.doi.org/10.3233/BME-171637>
- Dumani, A., Yoldas, O., Yilmaz, S., Koksall, F., Kayar, B., Akcimen, B., & Seydaoglu, G. (2012). Polymerase chain reaction of *enterococcus faecalis* and *candida albicans* in apical periodontitis from Turkish patients. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 4(1), e34–e39. doi:10.4317/jced.50669
- Eskandarinezhad, M., Shahveghar-Asl, N., Sharghi, R., Shirazi, S., Shakouie, S., Milani, A., & Balaei, E. (2017) Sealing efficacy of mineral trioxide aggregate with and without nanosilver for root end filling: An in vitro bacterial leakage study. *Journal*

of *Clinical and Experimental Dentistry*, 9(1), e27-e33.
<https://dx.doi.org/10.4317/jced.53070>

- Estrela C, Bammann LL, Estrela CR, Silva RS, Pécora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J*. 2000;11(1):3–9.
- Faraco, I., & Holland, R. (2001) Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dental Traumatology*, 17, 163-166.
- Farrugia, C., Baca, P., Camilleri, J., & Arias Moliz, M. T. (2017). Antimicrobial activity of ProRoot MTA in contact with blood. *Scientific reports*, 7, 41359. doi:10.1038/srep41359
- Fisher, K., & Phillips, C. (2009) The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*. 155,1749-1757. doi: 10.1099 / mic.0.026385-0
- Freitas, R. (2000). Nanodentistry. *The Journal of the American Dental Association*, 131(11), 1559–1565. doi:10.14219/jada.archive.2000.0084
- Funteas, U. R., Wallace, J. A., & Fochtman, E. W. (2003). A comparative analysis of Mineral Trioxide Aggregate and Portland cement. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc*, 29(1), 43–44. doi:10.1111/j.1747-4477.2003.tb00498.x
- Gandolfi, M. G., Iacono, F., Agee, K., Siboni, F., Tay, F., Pashley, D. H., & Prati, C. (2009). Setting time and expansion in different soaking media of experimental accelerated calcium-silicate cements and ProRoot MTA. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 108(6), e39–e45. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.07.039
- García-Contreras, R., Argueta-Figueroa, L., Mejía-Rubalcava, C., Jiménez-Martínez, R., Cuevas-Guajardo, S., Sánchez-Reyna, P. A., & Mendieta-Zeron, H. (2011). Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. *International dental journal*, 61(6), 297–301. doi:10.1111/j.1875-595X.2011.00072.x
- Ghannoum, M. A., Jurevic, R. J., Mukherjee, P. K., Cui, F., Sikaroodi, M., Naqvi, A., & Gillevet, P. M. (2010). Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS pathogens*, 6(1), e1000713. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000713>
- Guerreiro-Tanomaru, J. M., Cornélio, A. L., Andolfatto, C., Salles, L. P., & Tanomaru-Filho, M. (2012). pH and Antimicrobial Activity of Portland Cement Associated with Different Radiopacifying Agents. *ISRN dentistry*, 2012, 469019. doi:10.5402/2012/469019

- Guerreiro Tanomaru, J., Storto, I., Da Silva, G. , Bosso, R., Costa, B., Bernardi, M., & Tanomaru-Filho, M. (2014). Radiopacity, pH and antimicrobial activity of Portland cement associated with micro- and nanoparticles of zirconium oxide and niobium oxide. *Dental Materials Journal*, 33(4),466-70. <https://doi.org/10.4012/dmj.2013-328>
- Guerreiro-Tanomaru, J. M., Trindade-Junior, A., Costa, B. C., da Silva, G. F., Drullis Cifali, L., Basso Bernardi, M. I., & Tanomaru-Filho, M. (2014). Effect of zirconium oxide and zinc oxide nanoparticles on physicochemical properties and antibiofilm activity of a calcium silicate-based material. *The Scientific World Journal*, 975213. doi:10.1155/2014/975213
- Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and infection*, 18(5), 310–321. doi:10.1016/j.micinf.2016.01.002
- Halkai, K. R., Halkai, R., Mudda, J. A., Shivanna, V., & Rathod, V. (2018). Antibiofilm efficacy of biosynthesized silver nanoparticles against endodontic-periodontal pathogens: An in vitro study. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 21(6), 662–666. doi:10.4103/JCD.JCD_203_18
- Halkai, K. R., Mudda, J. A., Shivanna, V., Rathod, V., & Halkai, R. (2018). Evaluation of Antibacterial Efficacy of Fungal-Derived Silver Nanoparticles against *Enterococcus faecalis*. *Contemporary clinical dentistry*, 9(1), 45–48. doi:10.4103/ccd.ccd_703_17
- Hasan Zarrabi, M., Javidi, M., Naderinasab, M., & Gharechahi, M. (2009). Comparative evaluation of antimicrobial activity of three cements: new endodontic cement (NEC), mineral trioxide aggregate (MTA) and Portland. *Journal of Oral Science*, 51(3), 437-42. <https://doi.org/10.2334/josnurd.51.437>
- Henrique Borges, A., Aguirre Guedes, O., Evaristo Ricci Volpato, L., Siebert Filho, G., Meireles Borba, A., Zina, O., ... Estrela, C. (2017). Physicochemical Properties of MTA and Portland Cement after Addition of Aloe Vera. *Iranian endodontic journal*, 12(3), 312–317. doi:10.22037/iej.v12i3.10635
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C. y Baptista Lucio, P. (2014). *Metodología de la investigación (McGraw-Hill Interamericana)*. México. Recuperado de <http://www.e-libro.com/ayuda>
- Højby, N., Ciofu, O., Johansen, H. K., Song, Z. J., Moser, C., Jensen, P. Ø., Molin, S., Givskov, M., Tolker-Nielsen, T., & Bjarnsholt, T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms. *International journal of oral science*, 3(2), 55–65. doi:10.4248/IJOS11026
- Hosoya, N., Takigawa, T., Horie, T., Maeda, H., Yamamoto, Y., Momoi, Y., Yamamoto, K., & Okiji, T. (2019) A review of the literature on the efficacy of mineral trioxide

- aggregate in conservative dentistry. *Dental Materials Journal*, 13. <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-193>
- Huang, Y., Li, X., & Mandal, P. (2019) The in vitro antimicrobial activities of four endodontic sealers. *BMC Oral Health* 19,118. doi:10.1186/s12903-019-0817-2
- Hwang, Y. C., Lee, S. H., Hwang, I. N., Kang, I. C., Kim, M. S., & Kim, W. M. (2009). Chemical composition, radiopacity, and biocompatibility of Portland cement with bismuth oxide. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 107(3), e96–e102. doi:10.1016/j.tripleo.2008.11.015
- Islam, I., Chng, H. K., & Yap, A. U. (2006). Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. *Journal of endodontics*, 32(3), 193–197. doi:10.1016/j.joen.2005.10.043
- Jafari, F., Jafari, S., Samadi Kafil, H., Momeni, T., & Jamloo, H. (2017). Antifungal Activity of Two Root Canal Sealers against Different Strains of Candida. *Iranian endodontic journal*, 12(1), 98–102. doi:10.22037/iej.2017.20
- Jonaidi-Jafari, N., Izadi, M., & Javidi, P. (2016). The effects of silver nanoparticles on antimicrobial activity of ProRoot mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium enriched mixture (CEM). *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 8(1), e22-6. <http://dx.doi.org/10.4317/jced.52568>
- Khalifa, L., Shlezinger, M., Beyth, S., Houry-Haddad, Y., Copenhagen-Glazer, S., Beyth, N., & Hazan, R. (2016). Phage therapy against *Enterococcus faecalis* in dental root canals. *Journal of Oral Microbiology*. 16;8:32157. 10.3402/jom.v8.32157.
- Khedmat, S., Aminipor, M., Pourhajibagher, M., Kharazifar, M. J., & Bahador, A. (2018). Comparison of Antibacterial Activities of ProRoot MTA, OrthoMTA, and RetroMTA Against Three Anaerobic Endodontic Bacteria. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*, 15(5), 294–299. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6397732/>
- Khedmat, S., Aminipor, M., Pourhajibagher, M., Kharazifar, M., & Bahador, A. (2018). Comparison of Antibacterial Activities of ProRoot MTA, OrthoMTA, and RetroMTA Against Three Anaerobic Endodontic Bacteria. *Journal of Dentistry of Tehran University of Medical Sciences*, 15(5), 294-299. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6397732/>
- Kim Ryan, J., Kim, M., Lee, K., Lee, D., & Shin Joo-Hee. (2015). An in vitro evaluation of the antibacterial properties of three mineral trioxide aggregate (MTA) against five oral bacteria. *Archives of Oral Biology*, 60(10), 1497-502. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.07.014>

- Koruyucu, M., Topcuoglu, N., Tuna, E. B., Ozel, S., Gencay, K., Kulekci, G., & Seymen, F. (2015). An assessment of antibacterial activity of three pulp capping materials on *Enterococcus faecalis* by a direct contact test: An in vitro study. *European journal of dentistry*, 9(2), 240–245. doi:10.4103/1305-7456.156837
- Kovac, J., Kovac, D., Slobodnikova, L., & Kotulova, D. (2013). *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in the dental root canal and periapical infections. *Bratislavske lekarske listy*, 114(12), 716–720.
- Kundzina, R., Stangvaltaite, L., Eriksen, HM., & Kerosuo, E. (2017). Capping carious exposures in adults: a randomized controlled trial investigating mineral trioxide aggregate versus calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*, 50, 924-932.
- Lee, SJ., Monsef, M., & Torabinejad, M. (1993). Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *Journal of Endodontics*, 19,541-544.
- Li, Z., Sun, J., Lan, J., & Qi, Q. (2016). Effect of a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles on *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. *Gerodontology*, 33(2), 209–216. doi:10.1111/ger.12142
- Lins, R., de Oliveira Andrade, A., Hirata Junior, R., Wilson, M., Lewis, M., Williams, D., & Fidel, R. (2013). Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections. *Journal of Dentistry*, 41(9),779-86. 10.1016/j.jdent.2013.07.004.
- Lourenço Neto, N., Marques, N. C., Fernandes, A. P., Rodini, C. O., Duarte, M. A., Lima, M. C., ... Oliveira, T. M. (2014). Biocompatibility of Portland cement combined with different radiopacifying agents. *Journal of oral science*, 56(1), 29–34. doi:10.2334/josnusd.56.29
- Loyola, J., Torres, F., Espinosa, L., García, J., Loyola, A., González, F., Soto, U., Nieto, R., & Contreras, G. (2019). Antimicrobial activity of endodontic sealers and medications containing chitosan and silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Applied Biomaterial & Functional Material*, 17(3), <http://dx.doi.org/10.1177/2280800019851771>
- Luddin N., (2013). The antibacterial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*: A review on agar diffusion and direct contact methods. *Journal of Conservative Dentistry*, 16(1),9-16. <http://dx.doi.org/10.4103/0972-0707.105291>
- Ma, X., Li, C., Jia, L., Wang, Y., Liu, W., Zhou, X., Johnson, T., & Huang, D. (2016). Materials for retrograde filling in root canal therapy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 12, <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005517.pub2>.

- Mangala, M. G., Chandra, S. M., & Bhavle, R. M. (2015). To evaluate the biocompatibility of the Indian Portland cement with potential for use in dentistry: An animal study. *Journal of conservative dentistry : JCD*, 18(6), 440–444.
- Marciano, M. A., Garcia, R. B., Cavenago, B. C., Minotti, P. G., Midena, R. Z., Guimarães, B. M., ... Duarte, M. A. (2014). Influence of bismuth oxide concentration on the pH level and biocompatibility of white Portland cement. *Journal of applied oral science : revista FOB*, 22(4), 268–273. doi:10.1590/1678-775720130059
- Marques, N., Lourenço Neto, N., Fernandes, A. P., Rodini, C., Hungaro Duarte, M., Rios, D., ... Oliveira, T. (2015). Pulp tissue response to Portland cement associated with different radio pacifying agents on pulpotomy of human primary molars. *Journal of microscopy*, 260(3), 281–286. doi:10.1111/jmi.12294
- Mathur, V. P., Dhillon, J. K., Logani, A., & Kalra, G. (2016). Evaluation of indirect pulp capping using three different materials: A randomized control trial using cone-beam computed tomography. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research*, 27(6), 623–629. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.199588>
- McHugh, C. P., Zhang, P., Michalek, S., & Eleazer, P. D. (2004). pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *Journal of endodontics*, 30(4), 218–219. <https://doi.org/10.1097/00004770-200404000-00008>
- Melo, J.P, Sobral, A.V, Sampaio, G.C, Pinto, I.A., & Shinohara, N. K. (2015). Evaluation of cariogenic antibacterial activity of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *RGO - Revista Gaúcha de Odontologia*, 63(2), 181-186. <https://dx.doi.org/10.1590/1981-863720150002000072733>
- Menon, NP., Varma, BR., Janardhanan, S., Kumaran, P., Xavier, AM., & Govinda, BS. (2016). Clinical and radiographic comparison of indirect pulp treatment using light-cured calcium silicate and mineral trioxide aggregate in primary molars: a randomized clinical trial. *Contemporary Clinical Dentistry*, 7, 475–80.
- Mergoni, G., Percudani, D., Lodi, G., Bertani, P., & Manfredi, M. (2018). Prevalence of *Candida* Species in Endodontic Infections: Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Endodontics*, 44(11), 1616-1625. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.07.016>
- Morgental, R., Vier-Pelisser, F., Oliveira, S., Antunes, F., Cogo, D., & Kopper, P. (2011). Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *International Endodontic Journal*, 44(12), 1128-33. doi: 10.1111/j.1365-2591.2011.01931.x.
- Mozayeni, M. A., Hadian, A., Bakhshaei, P., & Dianat, O. (2015). Comparison of Antifungal Activity of 2% Chlorhexidine, Calcium Hydroxide, and Nanosilver

- gels against *Candida Albicans*. *Journal of dentistry* (Tehran, Iran), 12(2), 109–117.
- Nam, K. (2017). Characterization and antimicrobial efficacy of Portland cement impregnated with silver nanoparticles. *The Journal of Advanced Prosthodontics*, 9(3), 217-223. <http://dx.doi.org/10.4047/jap.2017.9.3.217>.
- Ning, Y., Hu, X., Ling, J., Du, Y., Liu, J., Liu, H., & Peng, Z. (2013). *Candida albicans* survival and biofilm formation under starvation conditions. *International Endodontic Journal*, 46(1), 62-70. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2591.2012.02094.x>.
- Nirupama, D. N., Nainan, M. T., Ramaswamy, R., Muralidharan, S., Usha, H. H., Sharma, R., & Gupta, S. (2014). In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Efficacy of Four Endodontic Biomaterials against *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, and *Staphylococcus aureus*. *International journal of biomaterials*, 2014, 383756. doi:10.1155/2014/383756
- Noronha, V. T., Paula, A. J., Durán, G., Galembeck, A., Cogo-Müller, K., Franz-Montan, M., & Durán, N. (2017). Silver nanoparticles in dentistry. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, 33(10), 1110–1126. doi:10.1016/j.dental.2017.07.002
- Oliveira, M., Xavier, C., Demarco, F., Pinheiro, A., Costa, A., & Pozza, D. (2007). Comparative chemical study of MTA and Portland cements. *Brazilian Dental Journal*, 18(1), 3-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-64402007000100002>
- Oliveira, T. M., Moretti, A. B., Sakai, V. T., Lourenço Neto, N., Santos, C. F., Machado, M. A., & Abdo, R. C. (2013). Clinical, radiographic and histologic analysis of the effects of pulp capping materials used in pulpotomies of human primary teeth. *European archives of pediatric dentistry : official journal of the European Academy of Pediatric Dentistry*, 14(2), 65–71. doi:10.1007/s40368-013-0015-x
- Parirokh, M., & Torabinejad, M. (2010). A comprehensive literature review –Part I: Chemical, physical, and antibacterial properties. *Journal of Endodontics*, 36(1), 16-27. <https://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.006>
- Parirokh, M., Torabinejad, M., & Dummer, P. (2018). Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: años updated overview - part I: vital pulp therapy. *International Endodontic Journal*, 51, 177-205
- Pérard, M., Le Clerc, J., Watrin, T., Meary, F., Pérez, F., Tricot-Doleux, S., & Pellen-Mussi, P. (2013). Spheroid model study comparing the biocompatibility of Biodentine and MTA. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 24(6), 1527–1534. doi:10.1007/s10856-013-4908-3

- Persoon, I., Buijs, M., Özok, A., Crielaard, W., Krom, B., Zaura, E., & Brandt, B. (2017). The mycobiome of root canal infections is correlated to the bacteriome. *Clinical Oral Investigations*, 21(5),1871-1881. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1980-3>
- Persoon, IF., Crielaard, W., Ozok, AR. (2017). Prevalence and nature of fungi in root canal infections: a systematic review and meta-analysis. *International Endodontic Journal*,50, 1055–1066. <https://doi.org/10.1111/iej.12730>
- Petrou, M. A., Alhamoui, F. A., Welk, A., Altarabulsi, M. B., Alkilzy, M., & H Splieth, C. (2014). A randomized clinical trial on the use of medical Portland cement, MTA and calcium hydroxide in indirect pulp treatment. *Clinical oral investigations*, 18(5), 1383–1389. doi:10.1007/s00784-013-1107-z
- Prati, C., & Gandolfi, M. G. (2015). Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications. *Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials*, 31(4), 351–370. doi:10.1016/j.dental.2015.01.004
- Qutieshat, A. S., Al-Hiyasat, A. S., & Darmani, H. (2019). Biocompatibility evaluation of Jordanian Portland cement for potential future dental application. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 22(3), 249–254. doi:10.4103/JCD.JCD_552_18
- Rónavári, A., Igaz, N., Gopisetty, M., Szerencsés, B., Kovács, D., Papp, C., Vágvölgyi, C., Boros, I., Kónya, Z., Kiricsi, M., & Pfeiffer, I. (2018). Biosynthesized silver and gold nanoparticles are potent antimycotics against opportunistic pathogenic yeasts and dermatophytes. *International Journal of Nanomedicine*, 1;13,695-703. <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S152010>
- Sakai, V. T., Moretti, A. B., Oliveira, T. M., Fornetti, A. P., Santos, C. F., Machado, M. A., & Abdo, R. C. (2009). Pulpotomy of human primary molars with MTA and Portland cement: a randomised controlled trial. *British dental journal*, 207(3), E5–129. doi:10.1038/sj.bdj.2009.665
- Sakko, M., Tjäderhane, L., & Rautemaa-Richardson, R. (2016). Microbiology of Root Canal Infections. *Primary Dental Journal*, 5(2),84-89. <https://www.ingentaconnect.com/content/fgdp/pdj/2016/00000005/00000002/art00009%3bjsessionid=1o29nt18kiiky.x-ic-live-01>
- Samiei, M., Aghazadeh, M., Lotfi, M., Shakoei, S., Aghazadeh, Z., & Vahid Pakdel, S. (2013). Antimicrobial Efficacy of Mineral Trioxide Aggregate with and without Silver Nanoparticles. *Iranian Endodontic Journal*, 8(4), 166-70. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3808675/>
- Shrestha, A., & Kishen, A. (2016). Antibacterial Nanoparticles in Endodontics: A Review. *Journal of Endodontics*, 42(10),1417-26. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.05.021>

- Siew, K., Lee, A. H., & Cheung, G. S. (2015). Treatment Outcome of Repaired Root Perforation: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of endodontics*, 41(11), 1795–1804. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.07.007>
- Silva, E. J., Herrera, D. R., Rosa, T. P., Duque, T. M., Jacinto, R. C., Gomes, B. P., & Zaia, A. A. (2014). Evaluation of cytotoxicity, antimicrobial activity and physicochemical properties of a calcium aluminate-based endodontic material. *Journal of applied oral science: revista FOB*, 22(1), 61–67. doi:10.1590/1678-775720130031
- Siqueira, JF., & Sen, BH. (2004). Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 97(5):632-41. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2003.12.022>
- Skoskiewicz-Malinowska, K., Kaczmarek, U., Malicka, B., Walczak, K., & Zietek M. (2017). Application of Chitosan and Propolis in Endodontic Treatment: A Review, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 17:410. <https://doi.org/10.2174/1389557516666160418122510>
- Solanki, N. P., Venkappa, K. K., & Shah, N. C. (2018). Biocompatibility and sealing ability of mineral trioxide aggregate and biodentine as root-end filling material: A systematic review. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 21(1), 10–15. doi:10.4103/JCD.JCD_45_17
- Song, W., Ge, S. (2019). Application of Antimicrobial Nanoparticles in Dentistry. *Molecules*, 24(6), 1033. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fmolecules24061033>
- Steffen R, van Waes H. Understanding mineral trioxide aggregate/Portland-cement: a review of literature and background factors. *Eur Arch Paediatr Dent*, 10(2):93–97. doi:10.1007/bf03321608
- Stowe, T., Sedgley, C., Stowe, B., & Fenno, J. (2004) The effects of chlorhexidine gluconate (0.12%) on the antimicrobial properties of tooth-colored ProRoot mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 30,429–31. <https://doi.org/10.1097/00004770-200406000-00013>
- Stuart, C., Schwartz, S., Beeson, T., & Owatz, C. (2006). *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of Endodontics*, 32(2),93-8. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.10.049>
- Shin, M., Chen, J. W., Tsai, C. Y., Aprecio, R., Zhang, W., Yochim, J. M., & Torabinejad, M. (2017). Cytotoxicity and Antimicrobial Effects of a New Fast-Set MTA. *BioMed research international*, 2071247. doi:10.1155/2017/2071247
- Şuhani, M. F., Băciuş, G., Băciuş, M., Şuhani, R., & Bran, S. (2018). Current perspectives regarding the application and incorporation of silver nanoparticles into dental biomaterials. *Clujul medical*, 91(3), 274–279. doi:10.15386/cjmed-935

- Tanomaru-Filho, M., Tanomaru, J., Barros, D., Watanabe, E., & Ito, I. (2007). In vitro antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. *Journal of Oral Science*, 49(1), 41-45. <https://doi.org/10.2334/josnusd.49.41>
- Torabinejad, M., Higa, M., & Pitt Ford T. (1994). Dye leakage of four root end filling materials: Effects of blood contamination. *Journal of Endodontics*, 20(4), 159-163. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80326-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80326-2)
- Torabinejad, M., Hong, CU., Pitt Ford, TR, & Kettering, JD. (1995). Antibacterial effects of some root end filling materials. *Journal of Endodontics*, 1995;21:403–6.
- Torabinejad, M., Hong, C., McDonald, F., & PittFord, T. (1995). Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *Journal of Endodontics*, 21:349–53.
- Trusewicz, M., Buczkowska-Radlinska, J., Giedrys-Kalemba, S. (2005). The effectiveness of some methods in eliminating bacteria from the root canal of a tooth with chronic apical periodontitis. *Annales Academiae Medicae Stetinensis*, 51,43–48.
- Tziafas, D. (1989) Experimental bacterial anachoresis in dog dental pulps capped with calcium hydroxide. *Journal of Endodontics*, 15,591–595. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(89\)80157-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(89)80157-8)
- Vazquez-Garcia, F., Tanomaru-Filho, M., Chávez-Andrade, G., Bosso-Martelo, R., Basso-Bernardi, M., & Guerreiro-Tanomaru, J. (2016). Effect of Silver Nanoparticles on Physicochemical and Antibacterial Properties of Calcium Silicate Cements. *Brazilian Dental Journal*, 27(5),508-514. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201600689>
- Vidana, R., Sillerström, E., Ahlquist, M., & Lund, B. (2015). Potential for nosocomial transmission of *Enterococcus faecalis* from surfaces in dental operatories. *International Endodontic Journal*, 48(6),518-27. 10.1111/iej.12342
- Watson, T., Atmeh, A., Sajini S., Cook, R., & Festy, F. (2014). Present and future of glass-ionomers and calcium-silicate cements as bioactive materials in dentistry: biophotonics-based interfacial analyses in health and disease. *Dental Materials*, 30(1), 50-61. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.08.202>
- Weckwerth, P.H., Machado, A.O., Kuga, M. C., Vivan, R.R., Polleto, R.S, & Duarte, M. (2012). Influence of radiopacifying agents on the solubility, pH and antimicrobial activity of portland cement. *Brazilian Dental Journal*, 23(5), 515-520. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-64402012000500008>
- Wu, D., Fan, W., Kishen, A., Gutmann, J. L., & Fan, B. (2014). Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Journal of endodontics*, 40(2), 285–290. doi:10.1016/j.joen.2013.08.022

- Wu BC, Wei CK, Hsueh NS, Ding SJ. Comparative cell attachment, cytotoxicity and antibacterial activity of radiopaque dicalcium silicate cement and white-coloured mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2015;48(3):268–276. doi:10.1111/iej.12310
- Wu, T., & Tang, M. (2018). The inflammatory response to silver and titanium dioxide nanoparticles in the central nervous system. *Nanomedicine (London, England)*, 13(2), 233–249. doi:10.2217/nmm-2017-0270
- Yang YW, Yu F, Zhang HC, et al. Physicochemical properties and cytotoxicity of an experimental resin-based pulp capping material containing the quaternary ammonium salt and Portland cement. *Int Endod J.* 2018;51(1):26–40. doi:10.1111/iej.12777
- Yildirim, C., Basak, F., Akgun, O. M., Polat, G. G., & Altun, C. (2016). Clinical and Radiographic Evaluation of the Effectiveness of Formocresol, Mineral Trioxide Aggregate, Portland Cement, and Enamel Matrix Derivative in Primary Teeth Pulpotomies: A Two Year Follow-Up. *The Journal of clinical pediatric dentistry*, 40(1), 14–20. doi:10.17796/1053-4628-40.1.14
- Yousra, M. N., Ahmed, H., Nada, O., Mostafa, S., & Neveen, A. (2019). Comparative Study of the Antibacterial effect of MTA, Nano-MTA, Portland cement, AND Nano-Portland cement. *Egyptian Dental Journal*, 40(1), 701-706. doi: 10.21608/edj.2019.72834
- Zeferino, E. G., Bueno, C. E., Oyama, L. M., & Ribeiro, D. A. (2010). Ex vivo assessment of genotoxicity and cytotoxicity in murine fibroblasts exposed to white MTA or white Portland cement with 15% bismuth oxide. *International endodontic journal*, 43(10), 843–848. doi:10.1111/j.1365-2591.2010.01747.x
- Zehnder, M., Guggenheim, B. (2009) The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. *International Endodontic Journal* 42, 277–287. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2008.01537.x>
- Zhang, C., Du, J., & Peng, Z. (2015). Correlation between *Enterococcus faecalis* and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic Review. *Journal of Endodontics*, 41(8),1207-13. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.04.008>
- Zhang, K., Li, F., Imazato, S., Cheng, L., Liu, H., Arola, D. D., ... Xu, H. H. (2013). Dual antibacterial agents of nano-silver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 101(6), 929–938. doi:10.1002/jbm.b.32898

Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534. doi:10.3390/ijms17091534

IX. Anexos

Anexo 1. Matriz de consistencia

Eficacia antimicrobiana del cemento portland con y sin nanopartículas de plata comparado con el mineral trióxido agregado frente a *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Indicadores	Escala de medición	Técnica y método	Instrumentos
GENERAL			Independiente Cemento endodóntico (Cemento Portland sin nanopartículas de plata) Cemento portland con nanopartículas de plata Mineral Trióxido Agregado) Dependiente Eficacia antimicrobiana Interviniente Tiempo	Tipo de cemento endodóntico Medida del halo de inhibición registrado en milímetros (mm) Número de horas transcurridos desde la mezcla de los cementos estudiados	Nominal politómica Razón continua Razón continua	Nivel: Explicativo Tipo Comparativo, longitudinal y prospectivo Diseño: Experimental <i>in vitro</i> Método: Observación estructurada	Fichas de recolección de datos Pie de rey digital
ESPECÍFICO							
¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente a <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Cándida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas?	Determinar la eficacia antimicrobiana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata y el Mineral Trióxido Agregado frente a <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Cándida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas	El cemento endodóntico Portland con y sin nanopartículas de plata presentan diferencias significativas en la eficacia antimicrobiana frente a <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Cándida albicans</i> en comparación con el Mineral Trióxido Agregado.					
1. ¿Cuál será la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente al <i>Enterococcus faecalis</i> ?	1. Determinar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente al <i>Enterococcus faecalis</i>	1. El cemento Portland con y sin nanopartículas y el Mineral Trióxido Agregado presentan eficacia antibacteriana a las 24, 48 y 72 horas frente al <i>Enterococcus faecalis</i> .					
2 ¿Cuál será la eficacia antifúngica del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente a la <i>Candida albicans</i> ?	2. Determinar la eficacia antifúngica del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado a las 24, 48 y 72 horas frente a la <i>Candida albicans</i>	2 El cemento Portland con y sin nanopartículas y el Mineral Trióxido Agregado presentan eficacia antibacteriana a las 24, 48 y 72 horas frente al <i>Candida albicans</i>					

<p>3. ¿Existirá diferencias en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al Enterococcus faecalis tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado?</p>	<p>3. Comparar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al Enterococcus faecalis tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.</p>	<p>3. Existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y Mineral Trióxido Agregado frente al Enterococcus faecalis tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.</p>					
<p>4. ¿Existirá diferencias en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al Enterococcus faecalis entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado?</p>	<p>4. Comparar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente al Enterococcus faecalis entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.</p>	<p>4. Existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y Mineral Trióxido Agregado frente al Enterococcus faecalis entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.</p>					
<p>5. ¿Existirá diferencias en la eficacia antifúngica al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a la Candida albicans tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado?</p>	<p>5. Comparar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a la Candida albicans tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.</p>	<p>5. Existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y Mineral Trióxido Agregado frente a la Candida albicans tanto a las 24, como a las 48 y 72 horas de sembrado.</p>					
<p>6. ¿Existirá diferencias en la eficacia antifúngica al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a la Candida albicans entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado?</p>	<p>6. Comparar la eficacia antibacteriana del cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y el Mineral Trióxido Agregado frente a la Candida albicans entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.</p>	<p>6. Existe diferencias significativas en la eficacia antibacteriana al comparar el cemento Portland con y sin nanopartículas de plata, y Mineral Trióxido Agregado frente a la Candida albicans entre las 24, 48 y 72 horas de sembrado.</p>					

Anexo 2: Instrumento de medición



Medición de los halos de inhibición mediante un pie de rey digital (Mitutoyo ®; Japón)

Anexo 3. Ficha de recolección de datos

Microorganismo	Cemento	Nro. de Placa	Medida de halos de inhibición en mil según Tiempos de evaluación		
			24h	48 h	72h
	Agua destilada	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			
		7			
		8			
		9			
		10			
	Portland sin nanopartículas de plata	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			
		7			
		8			
		9			
		10			
	Portland con nanopartículas de plata	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			
		7			
		8			
		9			
		10			
	Mineral Trióxido Agregado - MTA	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			
		7			
		8			
		9			
		10			

Anexo 4: Constancia de ejecución



LA SECRETARIA DE FACULTAD DE LA FACULTAD DE ODONTOLÓGIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN MARTÍN DE PORRES

HACE CONSTAR:

Que, el Mg. Eduardo Quea Cahuana, docente de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres, ha trabajado activamente en la ejecución del proyecto de investigación titulado "Actividad antimicrobiana del cemento portland asociado a nanopartículas de plata en comparación al mineral trióxido agregado frente al *Enterococcus Faecalis* y la *Cándida Albicans*", llevando a cabo la fase experimental en el Laboratorio de Investigación Microbiológica de nuestra Facultad en la ciudad universitaria de Santa Anita.

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente el día uno del mes de febrero del año dos mil veintiuno.



Firmado
digitalmente por
LILIA INES MORI
GUERRERO
Fecha: 2021.02.01
17:18:26 -05'00'

LIMG/Nelly

Facultad de Odontología
Jr. Las Calandrias N° 151 - 291
Santa Anita
Telf: 317-2130
odontologia@usmp.pe
www.usmp.edu.pe/odonto/index.php

Anexo 5: Pruebas de normalidad

Grupos	Shapiro Wilk		
	Estadístico	gl	p-valor ^a
Portland sin nanopartículas de plata a las 24 horas	0.959	10	0.774
Portland sin nanopartículas de plata a las 48 horas	0.971	10	0.901
Portland sin nanopartículas de plata a las 72 horas	0.969	10	0.882
Portland con nanopartículas de plata a las 24 horas	0.947	10	0.636
Portland con nanopartículas de plata a las 48 horas	0.966	10	0.848
Portland con nanopartículas de plata a las 72 horas	0.909	10	0.273
Mineral trióxido agregado a las 24 horas	0.904	10	0.245
Mineral trióxido agregado a las 48 horas	0.947	10	0.632
Mineral trióxido agregado a las 72 horas	0.965	10	0.837

^a Distribución normal ($p > 0.05$)

Anexo 6: Fotografías de procedimientos

Pesaje y mezcla de los cementos de estudio



Imagen 1. Cementos de estudio



Imagen 2. Pesaje de cementos



Imagen 3. Mezcla de cementos



Imagen 4. Mineral Trióxido Agregado – Angelus

Pruebas confirmatorias de microorganismos



Imagen 5. Cepas de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*

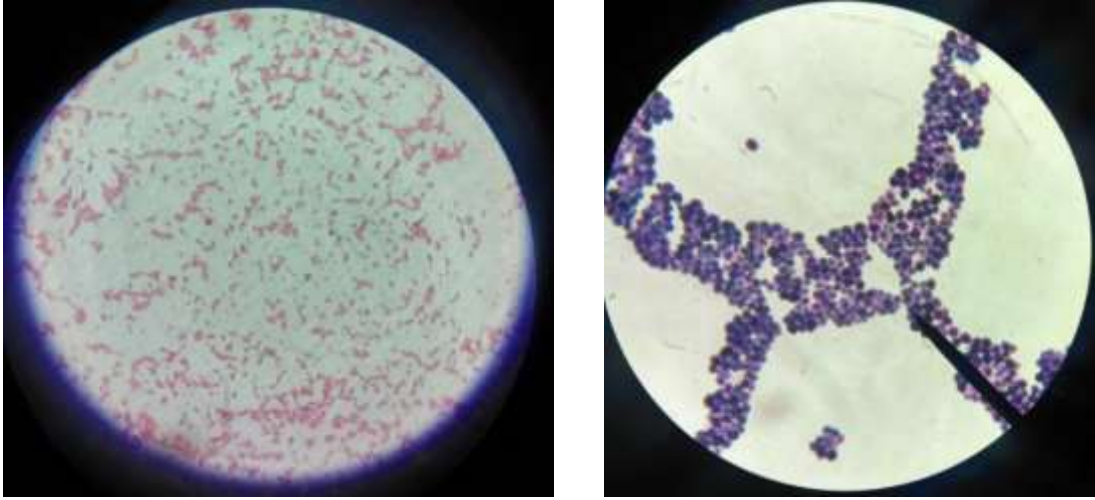


Imagen 6. Prueba confirmatoria de coloración GRAM

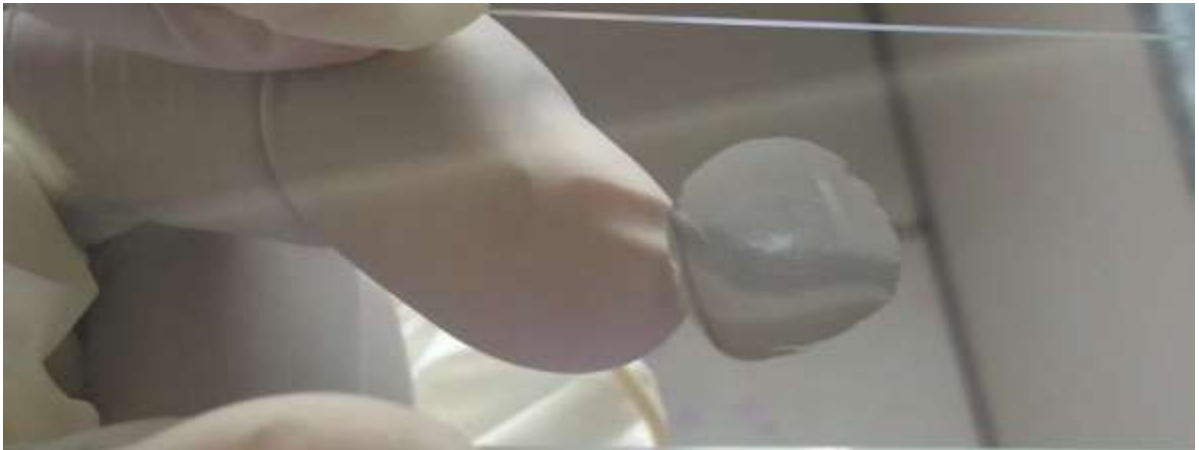


Imagen 7. Prueba confirmatoria de catalasa

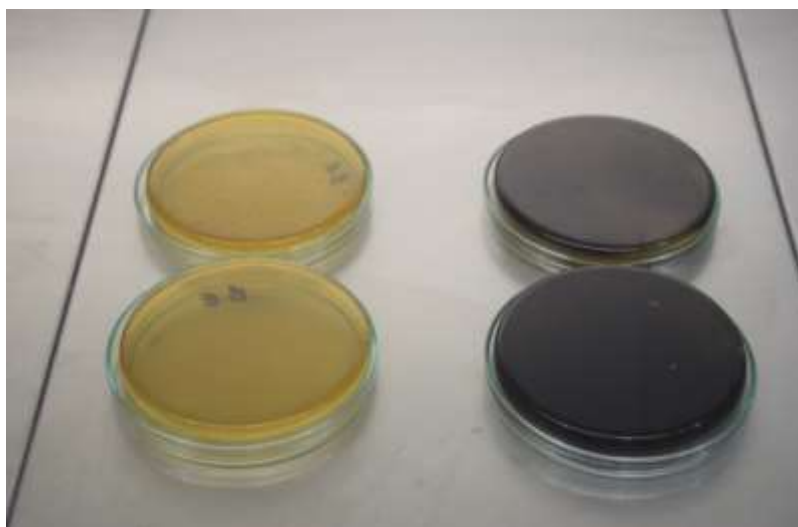


Imagen 8. Prueba confirmatoria de Agar Bilis Esculina

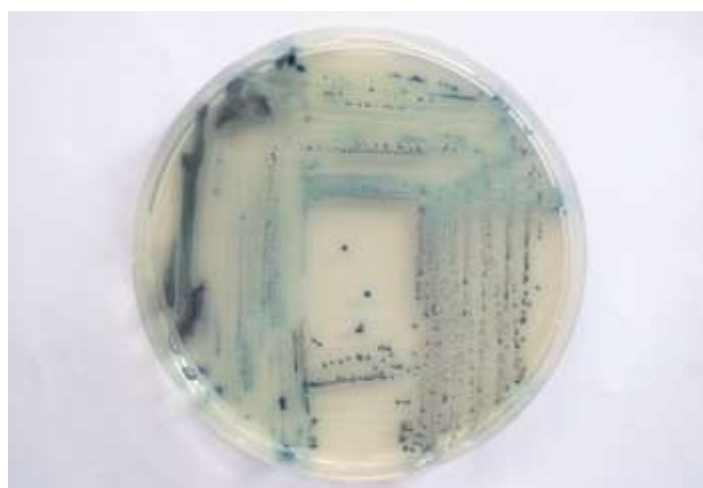


Imagen 9. Identificación por medio selectivo CHROMagar para *Candida albicans*



Imagen 10. Espectrofotómetro – Multiskan para prueba de concentración microbiana

Cultivo microbiano



Imagen 11. Cultivo microbiano en cabina de flujo laminar



Imagen 12. Caldo Tripticasa Soya (TSB)



Imagen 13. Extensión del inóculo en el Agar con el asa digralsky



Imagen 14. Elaboración de agujeros en el Agar mediante un sacabocado



Imagen 15. Incubación a 37°C.

Formación de halos de inhibición

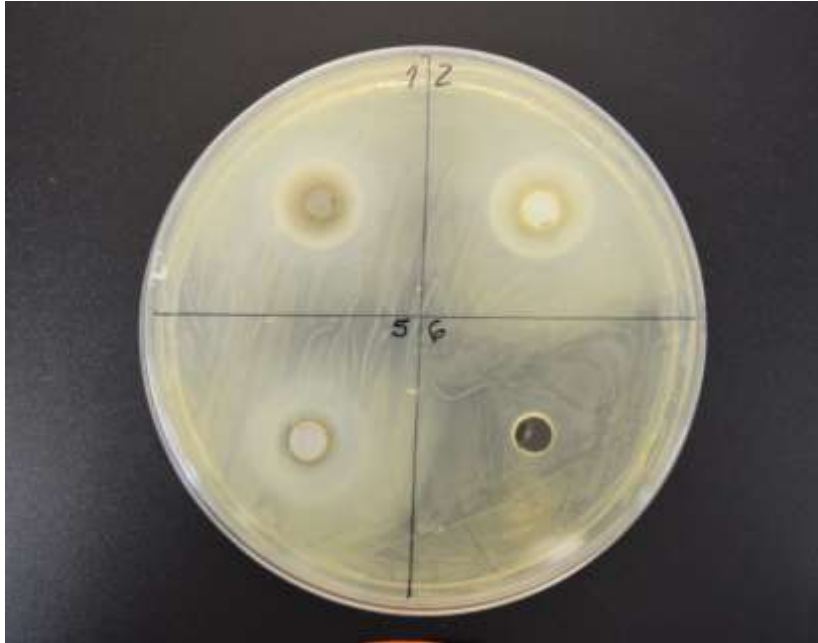


Imagen 16. Halo de inhibición frente a *Enterococcus faecalis*

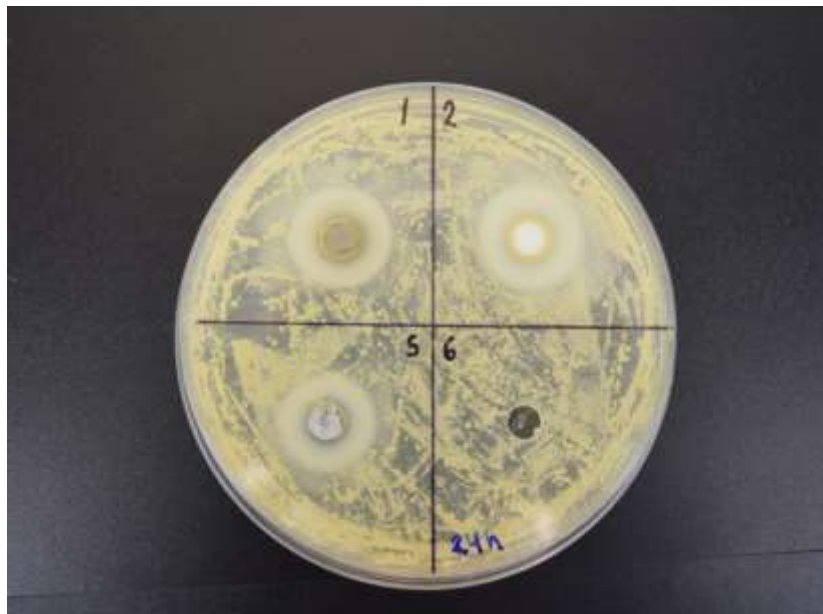


Imagen 17. Halo de inhibición frente a *Candida albicans*