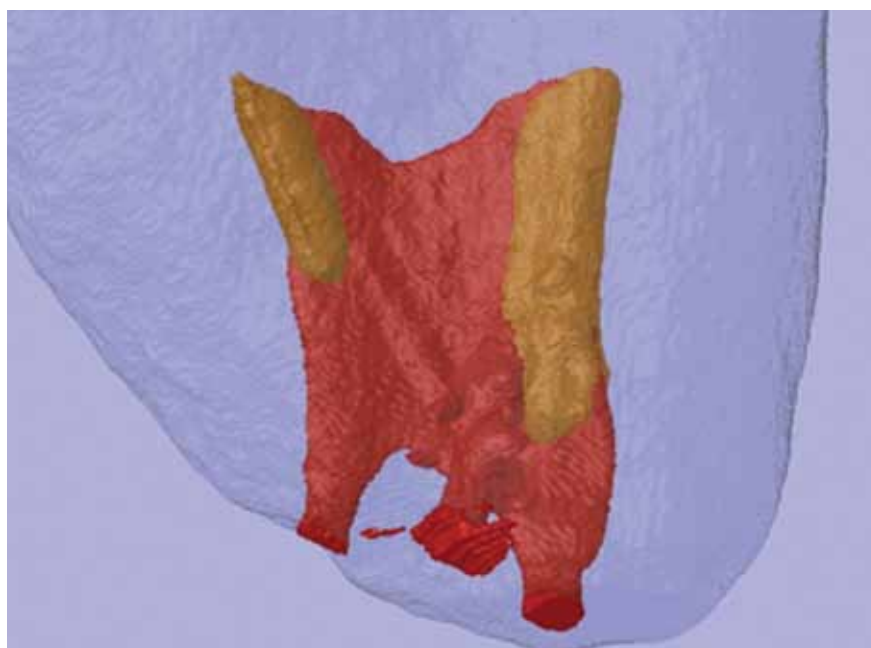


# Canal abierto

Revista de la Sociedad de Endodoncia de Chile





# Canal abierto

Revista de la Sociedad de Endodoncia de Chile

Nº 30 Octubre 2014

ISSN 0718-2368



## Director

Dr. Carlos Olguín C.

## Comité Editorial

Dra. Marcia Antúnez R.

Dr. Cristián Chandía G.

Dra. Priscilla Ledezma A.

Dra. Mónica Pelegrí H.

Dra. Milena Soto A.

Dr. Wenceslao Valenzuela A.

Dra. Verónica Viñuela V.

## Foto Portada

Microtomografía computarizada del ápice.

Página 5

## Diagramación

www.ideagrafica.cl

ideagrafica@ideagrafica.cl / 09 - 230 7239

## Impresión

Salvati Impresores

Secretaría SECH, Srta. Carla Vega Riquelme  
Callao 2970, Of. 610, Las Condes, Santiago.  
Fono-Fax 222 429 098 info@socendochile.cl



www.socendochile.cl



## Directorio SECH

|                                 |                                                          |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Presidente:                     | Dr. Marcelo Navia R.                                     |
| Presidente Electo:              | Dr. Carlos Olguín C.                                     |
| Vice-Presidente:                | Dra. Marcia Antúnez R.                                   |
| Secretaria:                     | Dra. Milena Soto A.                                      |
| ProSecretaria:                  | Dra. Olga Ljubetic G.                                    |
| Tesorera:                       | Dra. Mónica Pelegrí H.                                   |
| ProTesorera:                    | Dra. Verónica Viñuela V.                                 |
| Comite Cientifico:              | Dra. Priscilla Ledezma A.<br>Dr. Wenceslao Valenzuela A. |
| Coordinadora Filiales:          | Dra. Pilar Araya C.                                      |
| Director Revista Canal Abierto: | Dr. Cristián Chandía G.                                  |



## Nuevos Socios Activos

Arce Yañez, Mónica



## Nuevos Socios De Número

|                       |                     |
|-----------------------|---------------------|
| Toloza E, Rita        | Calderón D, Ivannia |
| Moreno Y, Yasna       | Urbano N, Sulma     |
| Hermosilla C, Ricardo | Quiroga D, Julieta  |
| Araya H, Marco        | Barria P, Valeria   |
| Yañez G, Carolina     | Bohle O, Luis       |



## Nuevos Socios Estudiantiles

|                      |                          |
|----------------------|--------------------------|
| Retamal M, Josefa    | Guajardo E, Paulina      |
| Campos C, Mabel      | Muñoz S, Felipe          |
| Llanccamán Y, Carlos | Borchert B, Ingrid       |
| Jerez R, Pilar       | Díaz P, Antonio          |
| Cornejo A, Verónica  | Raddatz M, Ottmar        |
| Benavente F, Javiera | Gómez, Felipe            |
| Muñoz A, Paulina     | Quijada L, Valentina     |
| Navia V, Marcelo     | Cuevas A, Ximena         |
| Solano M, Efrain     | Márquez C, Juan Carlos   |
| Margas C, Miguel     | Figueroa N, Lucía        |
| Rojas R, Fidel       | Ledezma R, Paulina       |
| García G, Roberto    | Sciolla S, Beatriz       |
| Reymond V, Antonio   | Yojay C, Denisse         |
| Rosales Ch, Belén    | Harnisch T, Alexandra    |
| Videla A, Andrés     | Braghetto B, Andrea      |
| Saavedra N, Isidora  | Pareja V, Pamela         |
| Rozo M, Claudia      | Perez M, Maria Pilar     |
| Parra C, Sandra      | Delpiano K, Elena        |
| Gaibor V, Raquel     | Toro L, Paulina          |
| Ocampo P, Julián     | Torreblanca R, Francisca |
| Gómez R, David       | Moreno S, Fabiola        |
| González V, Viviana  | Meza S, Gastón           |
| Uribe C, Álvaro      | Bravo C, María Francisca |
| Möller S, María Paz  | Paz C, Diana             |
| Figueroa C, Daniela  | Gómez G, Marcela         |
| Jiménez G, Manuel    | Loiza A, Nataly          |
| Acevedo S, Alejandra | Vega C, Gonzalo          |

## EDITORIAL

Queridos Colegas:

Estamos ya en el segundo semestre de actividades de nuestra sociedad, ya tuvimos la oportunidad de reunirnos y compartir durante el mes de Junio en nuestro curso internacional de endodoncia, el cual fue todo un éxito y aprovecho la instancia para agradecer a todos los que participaron en este evento; a modo de programación ya está definida la fecha del congreso del año 2015, el cual será los días 5 y 6 Junio del 2015 y contaremos con la participación de los Dres. Antonis Chianotis y Ronald Ordinola-Zapata, en relación a nuestro recién mencionado conferencista del año 2015, comenzamos nuestra revista con un artículo de él, en el cual nos entrega una actualización sobre Biofilms y Soluciones de Irrigación.

En nuestra tradicional sección de Actualización Científica compartimos con ustedes lo último de FKG Dentaire, una nueva secuencia de instrumentos, con algunas modificaciones con respecto al clásico RaCe; tenemos un artículo sobre erradicación de *Enterococcus faecalis* y otro en relación al mismo micro organismo, pero en su relación con clorhexidina y finalmente una comparación en la determinación de longitud de trabajo con el uso del Cone Beam.

En la sección de Casos Clínicos recibimos un caso de una colega argentina, donde nos muestra variaciones anatómicas en premolares inferiores.

En nuestra sección de Ventana Abierta tenemos por primera vez dos artículos, uno muy interesante sobre el efecto del blanqueamiento sobre el esmalte dentario y otro sobre uso y aplicaciones de las células madre de la pulpa dentaria.

Quiero dedicar unas palabras especiales de agradecimiento a todos los socios: honorarios, activos, de número, estudiantiles y corresponsales; ya que gracias a su apoyo tendré el honor de ser el presidente de la Sociedad de Endodoncia de Chile durante el 2015 y 2017, agradezco la confianza que depositan en mí; así mismo esta nueva responsabilidad me obliga a despedirme de todos ustedes de esta tribuna, me voy muy contento con el trabajo realizado como director y por sobre todo por el equipo que me acompañó todos estos años a cargo de nuestra revista científica.



Aprovecho nuevamente, al igual como ha sido en los números anteriores, este espacio para invitar a todos nuestros socios y la comunidad científica en general a enviar sus aportes según las normas de publicación a nuestro correo canalabierto@socendochile.cl.

Dr. Carlos Olguín C.  
Director Revista Canal Abierto

## SUMARIO

|                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Editorial                                                                                                                                                   | 2  |
| <hr/>                                                                                                                                                       |    |
| Artículo Científico                                                                                                                                         |    |
| Actualización biofilms y soluciones irrigadoras.                                                                                                            | 4  |
| <hr/>                                                                                                                                                       |    |
| Actualidad Científica                                                                                                                                       |    |
| BT RaCE: Biológico y conservador.                                                                                                                           | 10 |
| Estudio comparativo para la obtención de longitud real del diente utilizando localizador electrónico de foramen versus tomografía computarizada Cone Beam.  | 13 |
| Actividad antimicrobiana del extracto de <i>Allium sativum</i> y del digluconato de clorhexidina en aislamientos clínicos de <i>Enterococcus faecalis</i> . | 19 |
| Erradicación del <i>Enterococcus faecalis</i> : Medicamentos e irrigantes.                                                                                  | 26 |
| <hr/>                                                                                                                                                       |    |
| Jornada de Endodoncia Lima-Perú                                                                                                                             | 34 |
| <hr/>                                                                                                                                                       |    |
| Casos Clínicos                                                                                                                                              |    |
| Premolares inferiores con mayor complejidad anatómica: Casos clínicos.                                                                                      | 35 |
| <hr/>                                                                                                                                                       |    |
| Ventana Abierta                                                                                                                                             |    |
| Efecto del peróxido de hidrógeno sobre las moléculas polianiónicas del esmalte dental.                                                                      | 39 |
| Células Madre de la pulpa dental: Una mirada desde sus aplicaciones y sus proyecciones terapéuticas.                                                        | 47 |
| <hr/>                                                                                                                                                       |    |
| Normas de Publicación                                                                                                                                       | 56 |



# BT RACE



Scouting

Apical

Shaping

STERILE



SINGLE  
USE

Biológico &  
Conservativo

## Actualización biofilms y soluciones irrigadoras



Ronald Ordinola-Zapata<sup>1</sup>, Clovis Monteiro Bramante<sup>1</sup>, David Jaramillo<sup>2</sup>,  
Marco Antonio Húngaro Duarte<sup>1</sup>, Carlos Olguín Concha<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de dentística, Endodoncia y Materiales odontológicos, facultad de odontología de Bauru, Universidad de São Paulo, Bauru, SP, Brasil.

<sup>2</sup> UTH Science Center at Houston, School of Dentistry, Houston, Texas. USA.

<sup>3</sup> Docente Universidad Diego Portales y San Sebastián.

### INTRODUCCIÓN

Los biofilms son definidos como conjuntos de células adheridas a una superficie embebida en una matriz de exopolisacáridos (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999). Los biofilms están presentes en el conducto radicular con pulpa necrótica y en pulpas que presentan infecciones primarias o secundarias (RICUCCI; SIQUEIRA, 2011; RICUCCI, *et al.*, 2009). Como el conducto radicular es estéril en condiciones normales, la formación de biofilms en el espacio pulpar va a desencadenar una reacción inflamatoria a nivel periapical. RICUCCI & SIQUEIRA, (2010) demostraron que la periodontitis apical cumple los criterios propuestos por PARSEK & SINGH (2003), que los definen a seguir: las bacterias necesitan estar asociadas a un sustrato; las bacterias deben estar inmersas en una matriz producida por los propios microorganismos o por los elementos del hospedero; y, la infección es de naturaleza localizada y resistente a los antibióticos.

Numerosos experimentos de laboratorio han utilizado bacterias en estado planctónico de especies aeróbicas o anaeróbicas con la finalidad de demostrar la capacidad antimicrobiana de numerosas soluciones irrigadoras, tales como: cetrimida (PAPPEN, *et al.* 2010; PORTENIER, *et al.*, 2006), clorhexidina (VIANNA, *et al.*, 2004; PORTENIER, *et al.*, 2006), hipoclorito de sodio (VIANNA, *et al.*, 2004) yododeto de potasio (HAAPASALO, H.K., *et al.*, 2000) o "MTAD" (TORABINEJAD, *et al.*, 2003). Sin embargo, se considera actualmente que estas metodologías pueden no reflejar la real efectividad de las soluciones irrigadoras (PAPPEN, *et al.* 2010), debido a que el modo de crecimiento de los microorganismos en los conductos radiculares es en la forma de biofilm (RICUCCI; SIQUEIRA 2010; NAIR, 1997; NAIR, *et al.*, 2005; NAIR, 2006). Figura 1 y 2.

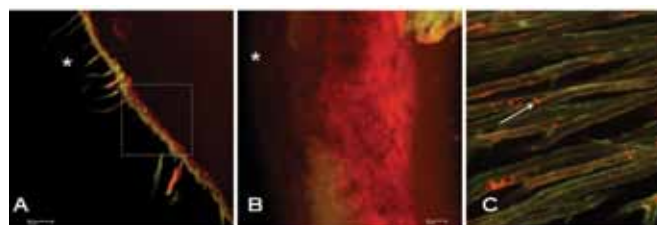


Figura 1. (A) Microscopía confocal de un conducto necrótico coloreado con naranja de acridina, el área de interés muestra una capa orgánica adherida a la superficie dentinaria (\*). Escala representa 10µm. Una magnificación de esta zona puede ser observada en (B). Diversos morfotipos microbianos adheridos firmemente a la dentina pueden ser observados. Escala representa 5µm. Una magnificación de los tubulos dentinarios adyacentes muestra presencia de células bacterianas dentro de la masa dentinaria (flechas).

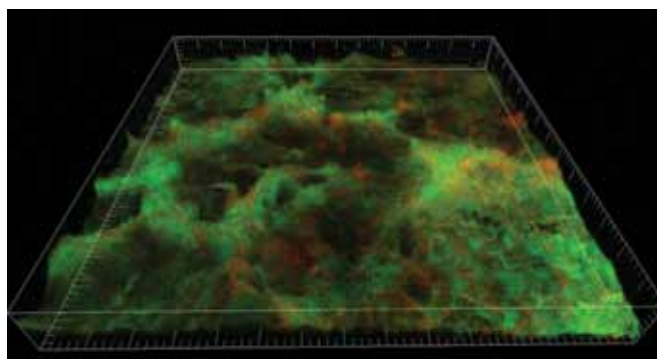


Figura 2. Imagen de superficie dentinaria colonizada por biofilm formado en la cavidad oral. El método live/dead utiliza marcadores fluorescentes y microscopía confocal de barrido láser para detectar células bacterianas que presentan membranas celulares permeables (Fluorescencia roja). Estas células están en proceso de "muerte celular" en comparación a las células con fluorescencia verde las cuales no presentan daños a su membrana. Este método permite el análisis tridimensional de biofilms directamente sobre la superficie estudiada.

### Eliminación química de biofilms en el área endodóntica

El objetivo principal de la preparación químico-mecánica es la completa eliminación de los microorganismos y sus productos asociados. A pesar de que la eliminación de los biofilms del conducto radicular debe ser realizada idealmente

por medios mecánicos, la instrumentación puede no afectar directamente una cantidad considerable de tejido infectado, esto es debido a la irregular anatomía transversal presente en el conducto radicular, como istmos o conductos laterales. Figura 3. Las soluciones irrigadoras presentan numerosas ventajas durante la terapia endodóntica, principalmente desde el punto de vista antimicrobiano, aunque también sean útiles para la lubricación y eliminación de “debris” producidos durante la instrumentación.

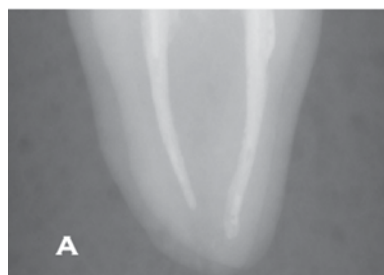


Figura 3. (A) Imagen radiográfica de obturación radicular de raíz mesial de molar inferior. Pocos vacíos son evidentes en la masa obturadora. (B) Microtomografía computarizada del ápice de la misma muestra. Puede observarse en rojo el área que no ha sido obturada. Observar como los conductos no son redondos a este nivel, adicionalmente un foramen accesorio es observado. La dificultad para obturar estas áreas probablemente se deba a la presencia de tejido orgánico a ese nivel. El objetivo de la irrigación en endodoncia es el de sanificar mediante soluciones químicas estas áreas de difícil acceso.

Al finalizar el proceso químico-mecánico, varios fenómenos suceden: a) eliminación del mayor volumen de biofilms, principalmente en la luz del conducto principal (NAIR, *et al.*, 2005); b) formación de smear layer sobre las paredes dentinarias instrumentadas; y c) acúmulo de debris dentinarios en las áreas no instrumentadas (PAQUE, *et al.*, 2009).

## Hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es considerado como la principal solución irrigadora debido a sus propiedades antimicrobianas y de capacidad de disolución de tejido orgánico. A pesar de que estudios microscópicos *in vitro* han demostrado que la completa disolución de biofilms adheridos a la dentina es posible cuando el NaOCl se encuentra en contacto directo con los microorganismos (DEL CARPIO-PEROCHENA, *et al.*, 2011), cuando esta solución ha sido investigada en condiciones clínicas, un efecto de disolución incompleta y biofilms residuales fueron comúnmente encontrados cuando la irrigación clásica fue

utilizada (VERA, *et al.* 2012.; NAIR, *et al.*, 2005). Estos resultados muestran que existen fenómenos adicionales que pueden alterar la capacidad antimicrobiana de esta solución irrigadora, incluyendo factores anatómicos, presencia de compuestos orgánicos o inorgánicos, tiempo de exposición y volumen de la solución irrigadora en contacto con la dentina infectada. Figura 4.

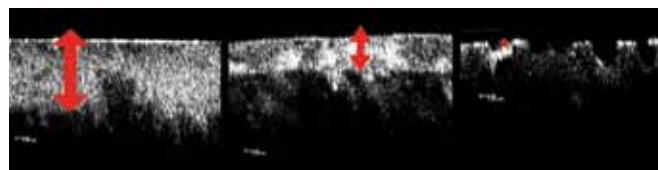


Figura 4. Imagen de microscopía confocal en modo de transmisión. El efecto del hipoclorito de sodio al 1% sobre el biofilm adherido a la dentina (flechas rojas) puede ser observado a través del tiempo. La espesura del biofilm después de 5min (A), 15min (B) y 30min (C) puede ser observada. Es evidente que el efecto de disolución es tiempo dependiente. A los 30 minutos de contacto solo una delgada capa de biofilm residual es evidente (\*).

Una limitación importante del hipoclorito de sodio es que este no remueve el smear layer, ni evita la acumulación de debris dentinarios en las irregularidades del sistema de conductos radiculares (ZEHNDER, *et al.*, 2005; PAQUE, *et al.*, 2009). Los debris dentinarios y el smear layer (compuestos inorgánicos) pueden actuar como barreras físicas, limitando la adecuada difusión del hipoclorito de sodio en las irregularidades micro-anatómicas. Los debris también pueden inactivar o disminuir la capacidad antimicrobiana del hipoclorito de sodio, pues la dentina puede consumir parte de la cantidad de cloro disponible de la solución (HAAPASALO, M., *et al.*, 2007).

Un avance promisorio en el área ha sido la incorporación de un quelante débil a la solución de hipoclorito de sodio. Este quelante denominado de ácido Etidróico permite un método de irrigación que podría denominarse de “quelación continua”, así mientras el hipoclorito puede disolver el contenido orgánico del conducto al mismo tiempo el ácido Etidróico evitaría la formación de smear-layer y acúmulo de debris durante la instrumentación (ZEHNDER, *et al.*, 2005). Hasta la fecha se sabe que esta mezcla no disminuye la cantidad de cloro activo de la solución, ni altera la capacidad de disolución de tejido o su capacidad antimicrobiana, como consecuencia la asociación de estas soluciones podría ser utilizada en un futuro como irrigante único durante y al final de la instrumentación reemplazando la irrigación post-instrumentación con un quelante.

## Otras soluciones

Otro grupo de soluciones irrigadoras incluyen al EDTA y ácido cítrico. Estas soluciones son utilizadas con el objetivo de eliminar el smear layer producido por los instrumentos endodónticos (VIOLICH; CHANDLER, 2010). Debido a las limitaciones de la preparación químico-mecánico el uso de irrigantes que remuevan el smear layer y presenten capacidad antimicrobiana es altamente deseable, esto debido a que el efecto antimicrobiano del EDTA es limitado.

Muchas soluciones irrigadoras, tales como “MTAD”, “Qmix”, “Smear Clear” o “Tetraclean” poseen EDTA o ácido cítrico en combinación con antisépticos o antibióticos como clorhexidina, cetrimida o doxiciclina (PAPPEN, *et al.* 2010; STOJICIC, *et al.* 2012; DUNAVANT, *et al.*, 2006). Sin embargo, muchos de estos trabajos no utilizaron la solución de hipoclorito de sodio como grupo control y por tanto, las implicaciones clínicas del uso de quelantes con propiedades antimicrobianas pueden aún ser limitadas. Adicionalmente, es poco conocido el beneficio de soluciones conteniendo antibióticos o antimicrobianos sobre biofilms intactos, los cuales pueden estar presentes en irregularidades donde los debris dentinarios fueron acumulados como el área de istmos.

Es interesante notar que el EDTA, además de eliminar el smear layer, puede reducir la cantidad de debris acumulados en las irregularidades anatómicas. Esta irrigación final, teóricamente, puede exponer áreas contaminadas previamente no tratadas por el trabajo inicial de desinfección. Estudios relataron que, cuando el hipoclorito de sodio era utilizado después del uso de EDTA, el efecto antimicrobiano mejoraba significativamente en comparación a la irrigación con hipoclorito de sodio sin el uso de EDTA (BYSTROM; SUNDQVIST, 1985; SOARES, *et al.*, 2010).

## Neutralización de antimicrobianos

La actividad neutralizante de los compuestos orgánicos como células muertas o matriz extracelular (EPS) sobre los agentes antimicrobianos está bien documentada (PORTENIER, *et al.*, 2006) (TOTE, *et al.* 2010; PORTENIER, *et al.*, 2002; MULCAHY; CHARRON-MAZENOD; LEWENZA, 2008). A pesar del hecho de que el 90% del EPS sea agua, la presencia de células, polímeros, proteínas o DNA actúan como una barrera difusiva lo que lleva a una disminución de la actividad antimicrobiana (DODDS; GROBE; STEWART, 2000). Por lo tanto, se espera que células dentro del biofilm estén expuestas a concentraciones diferentes del agente antimicrobiano. (STEWART, 2002; CHAMBLESS;

HUNT; STEWART, 2006). Esta teoría es muy aceptada en la investigación de biofilms (STEWART, 2002), y puede explicar el padrón irregular de la actividad antimicrobiana de algunos compuestos como la encontrada en la clorhexidina (CHAVEZ DE PAZ; BERGENHOLTZ; SVENSATER 2010; DUNAVANT, *et al.*, 2006; PAQUETTE, *et al.*, 2007) o “MTAD” (S. STOJICIC, 2011) (DUNAVANT, *et al.*, 2006; JOHAL; BAUMGARTNER; MARSHALL, 2007; MALKHASSIAN, *et al.*, 2009). La inactivación de una mezcla de 0.1% de cetrimida-clorhexidina y “MTAD” por compuestos orgánicos, tales como suero bovino o substrato dentinario ha sido reportada y está de acuerdo con la filosofía de esta revisión (PORTENIER, *et al.*, 2001; PORTENIER, *et al.*, 2002; PORTENIER, *et al.*, 2006).

Otra explicación para un efecto limitado de un antimicrobiano es el tiempo de contacto insuficiente para permitir una mejor distribución de los antimicrobianos dentro del biofilm. Esto puede ser crucial para soluciones irrigadoras que se utilizan por pocos minutos como los quelantes asociados a antimicrobianos. El factor tiempo y la presencia de restos orgánicos en la reacción de desinfección puede explicar porque comúnmente existen bacterias residuales después de la instrumentación. Por ejemplo, el hipoclorito de sodio es un agente oxidante muy reactivo, que presenta un efecto bien documentado de disolución sobre el biofilm (DEL CARPIO-PEROCHENA, *et al.* 2011; TOTE, *et al.* 2010; CLEGG, *et al.*, 2006). En algunas situaciones es posible que la reacción de disolución neutralice o consuma la cantidad de cloro disponible más rápidamente que la difusión del hipoclorito de sodio por las capas profundas del biofilm (CHEN; STEWART, 1996). Como resultado, células vivas pueden ser encontradas después del stress químico. La presencia de células vivas puede también ser facilitada por la característica irregular y rugosa de la dentina que incluye la presencia de infección en los túbulos dentinarios. Figura 5.

Es también aceptado que los biofilms que se presentan en las capas mas profundas estén en un estado alterado de metabolismo y sean más difíciles de ser eliminados por los antibióticos (ROBERTS; STEWART, 2005; CHAMBLESS; HUNT; STEWART, 2006). Modelos matemáticos en el área de biofilms mostraron 2 etapas en la disolución química de un biofilm (XAVIER, *et al.*, 2005). La primera etapa promueve una rápida disolución seguida de un largo período para remover las finas capas residuales que permanecen en las proximidades del substrato. También ha sido reportado que la velocidad de desorganización disminuye conforme el espesor del biofilm disminuye (XAVIER, *et al.*, 2005). Así,

una alta viabilidad puede estar unida a una reducida biomasa próxima a la interface dentinario (ORDINOLA-ZAPATA, *et al.*, 2013). Figura. 3

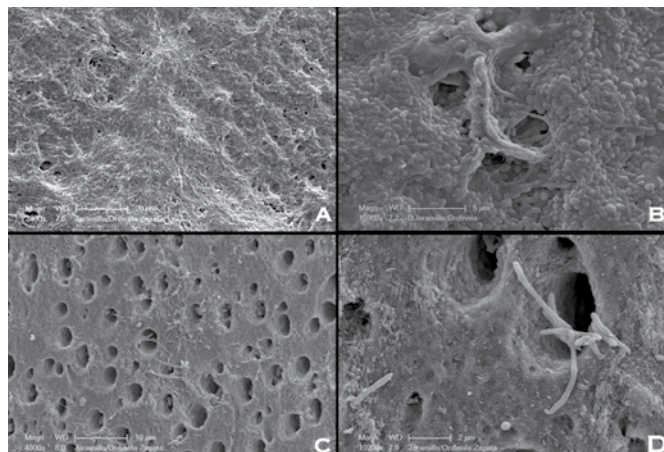


Figura 5. Imágenes de microscopía electrónica de barrido mostrando dentina contaminada intraoralmente antes (A-B) y después del tratamiento con hipoclorito de sodio 6% por 5 minutos. Una fuerte colonización de la estructura dentinaria puede ser observada (A-B). La limpieza química es evidente después del uso de esta solución irrigadora (C). Sin embargo, aun existen bacterias residuales en contacto con la superficie dentinaria. Una magnificación del área (D) muestra morfotipos del tipo bacilo sin daño estructural. La capacidad de limpieza del hipoclorito es afectado por el tiempo de contacto de la solución irrigadora y por la espesura del biofilm. (Imágenes de SEM realizadas en colaboración con el Dr. David Jaramillo, Universidad de Texas.

## Métodos físicos de irrigación endodóntica

Muchas informaciones significativas sobre los efectos físicos de los fluidos en los conductos radiculares fueron obtenidos en los últimos años (CHOW, 1983; AHMAD; PITT FORD; CRUM, 1987; DE GREGORIO, *et al.* 2010; JIANG, *et al.*, 2010). Estudios mostraron que la presión de la irrigación apical tanto positiva como negativa pueden alterar la difusión de la solución irrigadora en el interior del sistema de conductos radiculares, interfiriendo, consecuentemente, en la capacidad de limpieza (CHOW, 1983; DE GREGORIO, *et al.* 2010).

La deposición local de energía como luz o calor es necesaria para inducir cavitación (LAUTERBORN; OHL, 1997) y el fenómeno foto-acústico parece ser el mecanismo de limpieza en la interface líquido/dentina (FRENZ; PALTAUF; SCHMIDTKLOIBER, 1996; BLANKEN, *et al.*, 2009; DE GROOT, *et al.*, 2009). Un efecto asociado a la aplicación de ondas acústicas o foto-acústicas en los sistemas químicos es denominado de sono-química. Este efecto puede ser definido como la capacidad de la energía transportada por ondas acústicas en provocar o acelerar reacciones químicas. Por ejemplo, estudios en el área industrial mostraron que

el ultrasonido puede mejorar la capacidad de desinfección del hipoclorito de sodio (DUCKHOUSE, *et al.*, 2004; ZIFU LI, 2012). Otro estudio mostró que la reactividad del hipoclorito de sodio aumenta significativamente después de la aplicación de láser o ultrasonido (MACEDO, *et al.* 2010).

El uso de ondas de choque ha llamado la atención de diversas áreas médicas para tratar enfermedades relacionadas a biofilms. Un estudio mostró que esa técnica es efectiva para desagregar biofilms de *Staphylococcus aureus* y placa bacteriana en ausencia de antimicrobianos (KRESPI, *et al.* 2011; KRESPI; STOODLEY; HALL-STOODLEY, 2008). La desorganización del biofilm puede cambiar el estado de las bacterias; de la agregación hasta la forma planctónica. En esta última etapa, los microorganismos son muy susceptibles a los antimicrobianos (KIZHNER, *et al.* 2011).

En los últimos años, el uso del láser ha sido también propuesto como método para producir cavitación de líquidos, aumentando, así, la capacidad de limpieza (FRENZ; PALTAUF; SCHMIDTKLOIBER, 1996; LAUTERBORN; OHL, 1997; HELLMAN, *et al.*, 2007; J.W BLANKEN, 2007; PEEL; FANG; AHMAD, 2011). Cuando los pulsos de un láser son enfocados dentro de un fluido, ocurre la producción de plasma. La formación de plasma puede llevar a un calentamiento del material seguido de una explosión y de la emisión de una onda de choque sin ocasionar efectos térmicos sobre la superficie dentinaria. Esta técnica ya fue utilizada para eliminar smear layer (GEORGE, R.; MEYERS; WALSH, 2008) o debris dentinarios con resultados prometedores (DE GROOT, *et al.*, 2009). La irrigación asistida por láser (DE GROOT, *et al.*, 2009) ha sido previamente evaluada utilizando intensidades que varían de 25-300mJ (J.W BLANKEN, 2007; GEORGE, R.; MEYERS; WALSH, 2008; BLANKEN, *et al.*, 2009; MATSUMOTO; YOSHIMINE; AKAMINE, 2011; PETERS, *et al.*, 2011) las cuales pueden inducir cavitación de líquidos en el interior del conducto radicular (DIVITO; PETERS; OLIVI, 2012).

## Consideraciones finales

La irrigación endodóntica es considerada crucial para la desinfección de las áreas no afectadas por los instrumentos, siendo el uso de hipoclorito de sodio y soluciones quelantes indispensables para alcanzar los objetivos de la desinfección. Investigaciones en el campo de biofilms han mostrado que la estrategia más efectiva para eliminar los biofilms es a través de la disolución de su estructura (TOTE, *et al.* 2010). Así, parece que éste es el mecanismo que posibilita obtener mejores resultados.

## BIBLIOGRAFIA

- Ahmad M, Pitt Ford TJ, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. *J Endod.* 1987;13(10):490-9.
- Blanken J, De Moor RJG, Meire M, Verdaasdonk R. Laser Induced Explosive Vapor and Cavitation Resulting in Effective Irrigation of the Root Canal. Part 1: A Visualization Study. *Lasers in Surgery and Medicine.* 2009;41(7):514-9.
- Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol.* 1985;1(5):170-5.
- Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J.* 1985;18(1):35-40.
- Chambless JD, Hunt SM, Stewart PS. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72(3):2005-13.
- Chavez de Paz LE, Bergenholtz G, Svensater G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. *J Endod.* 2010;36(1):70-7.
- Chen X, Stewart PS. Chlorine penetration into artificial biofilm is limited by a reaction-diffusion interaction. *Environmental Science & Technology.* 1996;30(6):2078-83.
- Chow TW. Mechanical effectiveness of root canal irrigation. *J Endod.* 1983;9(11):475-9.
- Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod.* 2006;32(5):434-7.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999;284(5418):1318-22.
- de Gregorio C, Estevez R, Cisneros R, Paranjpe A, Cohenca N. Efficacy of different irrigation and activation systems on the penetration of sodium hypochlorite into simulated lateral canals and up to working length: an in vitro study. *J Endod.* 2010 36(7):1216-21.
- de Groot SD, Verhaagen B, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR, van der Sluis LWM. Laser-activated irrigation within root canals: cleaning efficacy and flow visualization. *International Endodontic Journal.* 2009;42(12):1077-83.
- Del Carpio-Perochena AE, Bramante CM, Duarte MA, Cavenago BC, Villas-Boas MH, Graeff MS, et al. Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *J Endod.* 2011 37(8):1134-8.
- DiVito E, Peters OA, Olivi G. Effectiveness of the erbium:YAG laser and new design radial and stripped tips in removing the smear layer after root canal instrumentation. *Lasers Med Sci.* 2012; 27(2):273-80.
- Dodds MG, Grobe KJ, Stewart PS. Modeling biofilm antimicrobial resistance. *Biotechnol Bioeng.* 2000;68(4):456-65.
- Duckhouse H, Mason TJ, Phull SS, Lorimer JP. The effect of sonication on microbial disinfection using hypochlorite. *Ultrasonics Sonochemistry.* 2004;11(3-4):173-6.
- Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2006;32(6):527-31.
- Frenz M, Paltauf G, SchmidtKloiber H. Laser-generated cavitation in absorbing liquid induced by acoustic diffraction. *Physical Review Letters.* 1996;76(19):3546-9.
- George R, Meyers IA, Walsh LJ. Laser Activation of Endodontic Irrigants with Improved Conical Laser Fiber Tips for Removing Smear Layer in the Apical Third of the Root Canal. *Journal of Endodontics.* 2008;34(12):1524-7.
- Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J.* 2000;33(2):126-31.
- Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod.* 2007;33(8):917-25.
- Hellman AN, Rau KR, Yoon HH, Bae S, Palmer JF, Phillips KS, et al. Laser-induced mixing in microfluidic channels. *Analytical Chemistry.* 2007;79(12):4484-92.
- Jiang LM, Verhaagen B, Versluis M, van der Sluis LWM. Evaluation of a Sonic Device Designed to Activate Irrigant in the Root Canal. *J Endod.* 2010;36(1):143-6.
- Johal S, Baumgartner JC, Marshall JG. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. *J Endod.* 2007;33(1):48-51.
- Kizhner V, Krespi YP, Hall-Stoodley L, Stoodley P. Laser-generated shockwave for clearing medical device biofilms. *Photomed Laser Surg.* 2011;29(4):277-82.
- Krespi YP, Kizhner V, Nistico L, Hall-Stoodley L, Stoodley P. Laser disruption and killing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Am J Otolaryngol.* 2011;32(3):198-202.
- Krespi YP, Stoodley P, Hall-Stoodley L. Laser disruption of biofilm. *Laryngoscope.* 2008;118(7):1168-73.
- Lauterborn W, Ohl CD. Cavitation bubble dynamics. *Ultrasonics Sonochemistry.* 1997;4(2):65-75.
- Macedo RG, Wesselink PR, Zaccaro F, Fanali D, Van Der Sluis LW. Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time, concentration and pH. *Int Endod J.* 2010; 43(12):1108-15.
- Malkhassian G, Manzur AJ, Legner M, Fillery ED, Manek S, Basrani BR, et al. Antibacterial efficacy of MTAD final rinse and two percent chlorhexidine gel medication in teeth with apical periodontitis: a randomized double-blinded clinical trial. *J Endod.* 2009;35(11):1483-90.
- Matsumoto H, Yoshimine Y, Akamine A. Visualization of Irrigant Flow and Cavitation Induced by Er:YAG Laser within a Root Canal Model. *Journal of Endodontics.* 2011;37(6):839-43.
- Mulcahy H, Charron-Mazenod L, Lewenza S. Extracellular DNA chelates cations and induces antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *PLoS Pathog.* 2008;4(11):e1000213.
- Nair PN. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol 2000.* 1997;13:121-48.
- Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.* 2006;39(4):249-81.
- Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(2):231-52.
- Pappen FG, Shen Y, Qian W, Leonardo MR, Giardino L, Haapasalo M. In vitro antibacterial action of Tetraclean, MTAD and five experimental irrigation solutions. *Int Endod J.* 43(6):528-35.
- Parsek MR, Singh PK. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annu Rev Microbiol.* 57: 677-701.
- Paque F, Laib A, Gautschi H, Zehnder M. Hard-tissue debris accumulation analysis by high-resolution computed tomography scans. *J Endod.* 2009;35(7):1044-7.
- Paquette L, Legner M, Fillery ED, Friedman S. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication in vivo. *J Endod.* 2007;33(7):788-95.
- Peel CS, Fang X, Ahmad SR. Dynamics of laser-induced cavitation in liquid. *Applied Physics a-Materials Science & Processing.* 2011;103(4):1131-8.
- Peters OA, Bardsley S, Fong J, Pandher G, DiVito E. Disinfection of Root Canals with Photon-initiated Photoacoustic Streaming. *Journal of Endodontics.* 2011;37(7):1008-12.
- Portenier I, Haapasalo H, Orstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M. Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and

- chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat-killed microbial whole cells. *J Endod.* 2002;28(9):634-7.
- Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J.* 2001;34(3):184-8.
  - Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. *J Endod.* 2006;32(2):138-41.
  - Ricucci D, Siqueira JF, Jr., Bate AL, Pitt Ford TR. Histologic investigation of root canal-treated teeth with apical periodontitis: a retrospective study from twenty-four patients. *J Endod.* 2009;35(4):493-502.
  - Ricucci D, Siqueira JF, Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod.* 2010; 36(8):1277-88.
  - Ricucci D, Siqueira JF, Jr. Recurrent apical periodontitis and late endodontic treatment failure related to coronal leakage: a case report. *J Endod.* 2011; 37(8):1171-5.
  - Roberts ME, Stewart PS. Modelling protection from antimicrobial agents in biofilms through the formation of persister cells. *Microbiology-Sgm.* 2005;151:75-80.
  - S. Stojicic YSWQ, B. Johnson, M. Haapasalo. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant QMiX. *Int Endod J.* 2012;45:363-71.
  - Siqueira JF, Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J.* 2001;34(1):1-10.
  - Siqueira JF, Jr., Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod.* 1998;24(6):414-6.
  - Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996;22(12):674-6.
  - Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod.* 1997;23(3):167-9.
  - Siqueira JF, Jr., Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999;32(5):361-9.
  - Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34(11):1291-301 e3.
  - Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Riche FN, Provenzano JC. Clinical outcome of the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis using an antimicrobial protocol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(5):757-62.
  - Soares JA, de Carvalho MAR, Santos SMC, Mendonca RMC, Ribeiro-Sobrinho AP, Brito M, et al. Effectiveness of Chemomechanical Preparation with Alternating Use of Sodium Hypochlorite and EDTA in Eliminating Intracanal *Enterococcus faecalis* Biofilm. *J Endod.* 2010;36(5):894-8.
  - Stewart PS. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Int J Med Microbiol.* 2002;292(2):107-13.
  - Torabinejad M, Shabahang S, Aprecio RM, Kettering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. *J Endod.* 2003;29(6):400-3.
  - Tote K, Horemans T, Vanden Berghe D, Maes L, Cos P. Inhibitory effect of biocides on the viable masses and matrices of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol.* 2010; 76(10):3135-42.
  - Vera J, Siqueira JF, Jr., Ricucci D, Loghin S, Fernandez N, Flores B, et al. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod.* 2012; 38(8):1040-52.
  - Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(1):79-84.
  - Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J.* 2010; 43(1):2-15.
  - Xavier JB, Picioreanu C, Rani SA, van Loosdrecht MC, Stewart PS. Biofilm-control strategies based on enzymic disruption of the extracellular polymeric substance matrix--a modelling study. *Microbiology.* 2005;151(Pt 12):3817-32.
  - Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod.* 2005;31(11):817-20.

## BT RaCE: Biológico y conservador



Dr. Carlos Olguín C. DDS, M. Ed.<sup>1</sup>

Dra. Marcia Antúnez R. DDS, M. Ed.<sup>2</sup>

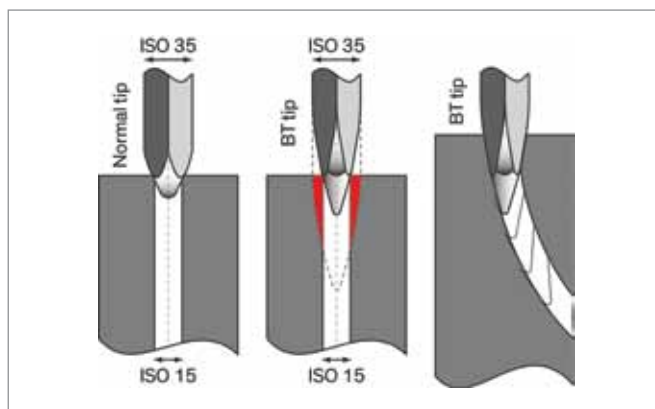
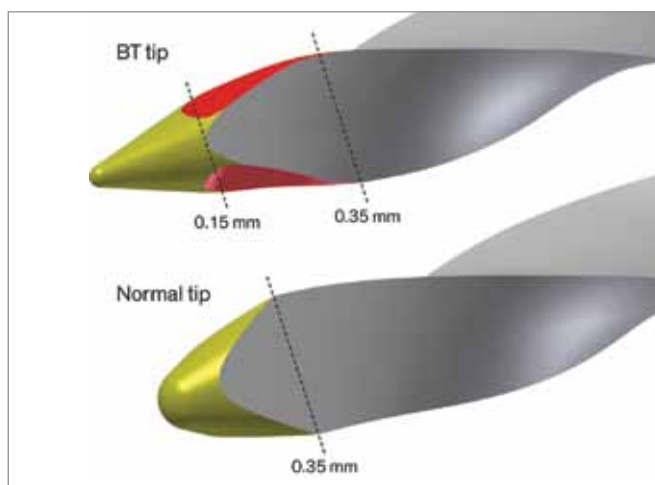
<sup>1</sup> Docente Universidad Diego Portales y Universidad San Sebastián

<sup>2</sup> Profesora Postítulo de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de los Andes.

La empresa suiza FKG Dentaire S.A. creó una nueva secuencia de sus conocidos instrumentos rotatorios RaCe. La diferencia fundamental, es que esta vez no sólo se trata de una secuencia de trabajo, sino que incorpora modificaciones en el diseño de la punta de los instrumentos, además por primera vez se comercializarán estériles de fábrica, y demarcados los milímetros en sus mangos.

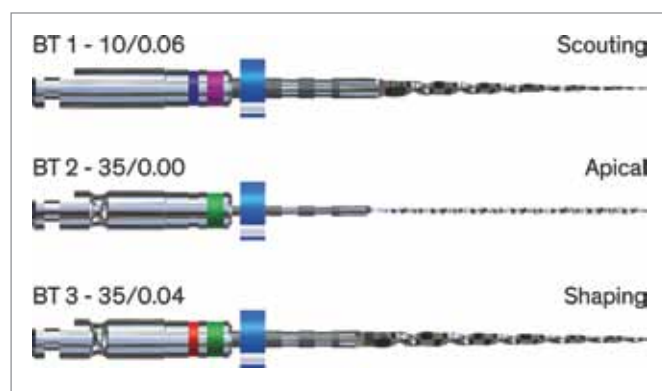
El nombre de la nueva secuencia se debe a la modificación de su punta, la cual se denominó “Booster Tip”. Esta nueva punta tiene la particularidad de ser inactiva, es redondeada entre 0 y 0,15 mm y recién comienzan sus filos a partir de los 0,15 mm. Este cambio en la punta es en todos los instrumentos; lo que permite que penetre fácilmente, por ejemplo en el caso de BT2 que su punta ISO es 35, entre 0 y 0,15 mm equivale a una lima 15, y a partir del mm 0,15 comienza a ser una lima 35.

La nueva secuencia está compuesta por tres instrumentos básicos, denominados BT1, BT2 y BT3. El primer instrumento, BT1 “Scouting” tiene por función conformar tercio cervical, medio y un poco apical; el segundo BT2 “Apical” es bastante particular, es un instrumento sin conicidad, es decir comienza en su punta siendo un 35 y termina de la misma forma su parte activa, nos hace recordar a S Apex, y el tercer instrumento BT3 “Shaping” es fundamental en la conformación del tope apical dejándolo en 35 al 4% de conicidad. Es una secuencia rápida y de un solo uso, según el fabricante.



Se recomienda una velocidad de 800 rpm, con un torque de 1,5 N/cm, y realizando un buen Glyde Path, si es necesario con limas manuales 10, 15 o con limas rotatorias como Scout RaCe o RaCe 10 si el caso lo amerita. El movimiento que

se utiliza con la secuencia es de pecking Motion (picoteo) entrando 3 a 4 veces como máximo a longitud de trabajo, por lo cual es necesario determinar longitud de trabajo posterior al Glyde Path, e irrigar simultáneamente entre cada instrumento.



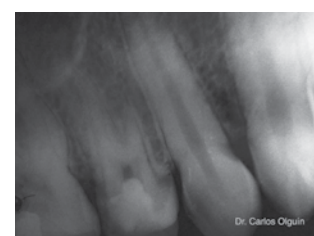
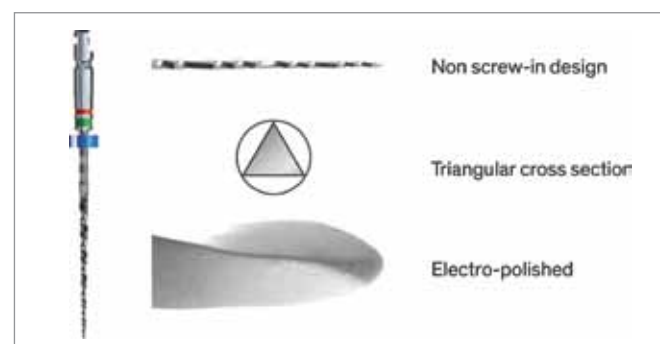
Además se dispone si fuera necesario de dos instrumentos más para conformar un tope apical mayor, que serían BT 40 y 50 con una conicidad del 4%.



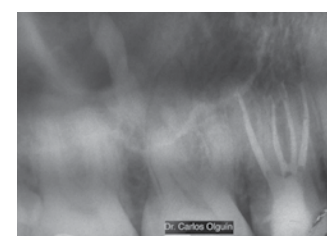
Cabe señalar también, que a pesar del cambio en el diseño de la punta de los instrumentos, éstos conservan todas las características que distinguen a RaCe como la codificación utilizada en el último tiempo donde el anillo de color en el mango que está más cercano a la punta nos dice el tamaño ISO del instrumento y el segundo anillo de color más cerca a la inserción en el contrángulo nos indica la conicidad, su tratamiento electroquímico de superficie, su sección triangular y los ángulos de corte alternados para evitar el efecto de atornillamiento.

Hemos tenido la oportunidad de realizar casos clínicos con esta secuencia que próximamente comenzará su comercialización en Chile. Se mantiene la sensación de corte de los instrumentos RaCe tradicionales. La variación mas importante la introduce BT2, ya que una vez que se logra llegar a LT con ella, el tratamiento ya está logrado, BT3 es muy similar al paso que se sentía en BioRaCe entre BR 3 y BR4.

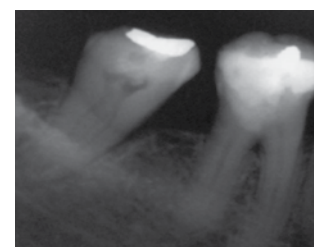
Creemos que es un concepto interesante, sobre todo por la modificación de su punta, que facilita el acceso al canal radicular.



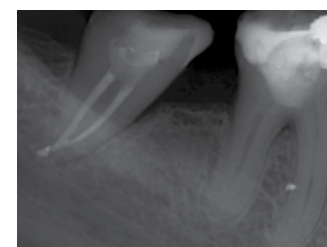
Premolar Superior diente 5 (1.4) se observan tres raíces en la radiografía previa.



Premolar Superior Diente 5 (1.4) Tratado endodónticamente con sistema Bt RaCe, donde se observa que presentaba cuatro canales radiculares.



RX preoperatoria



Rx final Bt RaCe



*Es Endodoncia*

**VDW.ULTRA®**



**RAYPEX® 6**



**RECIPROC®**  
*one file endo*



**BeeFill® 2in1**



**GUTTA FUSION®**



**m<sup>®</sup>**  
**two**

*Locales de venta:*

|            |                  |
|------------|------------------|
| Santiago   | (02) 2 777 99 94 |
| Concepción | (41) 2 853 355   |
| Temuco     | (45) 2 995 766   |

Mail: [info@exprodental.cl](mailto:info@exprodental.cl)



**EXPRO**  
**dental**

*Un mundo en Odontología*

## Estudio comparativo para la obtención de longitud real del diente utilizando localizador electrónico de foramen versus tomografía computarizada Cone Beam.



Oscar Fuentes G.<sup>1</sup>

Paz Riera F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Odontólogo. Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile.

<sup>2</sup> Especialista en Endodoncia. Docente de Endodoncia, Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile.

### RESUMEN

La determinación de la longitud de trabajo es uno de los pasos más importantes dentro de la terapia endodóntica. El objetivo de este estudio ex vivo experimental transversal fue determinar la discrepancia que existe entre la longitud obtenida con localizador electrónico de foramen (LRE) versus la longitud real clínica (LRC), en relación a la longitud real con tomografía computarizada Cone Beam (LRCB) versus la LRC. Para esto se escogieron 51 dientes extraídos, anteriores y premolares, unirradiculares y con un canal. Se midieron las longitudes con localizador electrónico de foramen y CBCT, y se compararon con la longitud real clínica. Los resultados arrojaron que no existen diferencias significativas entre los promedios de las diferencias entre LRE con LRC y LRCB con LRC con un  $p = 0.2$ . Se destaca dentro de los resultados que existe en promedio una diferencia de 0.43mm entre la LRE y la LRC, y un promedio de 0.29mm entre la LRCB y la LRC. Como conclusión, si bien las diferencias entre los métodos no son estadísticamente significativas, clínicamente pueden ser relevantes. Es necesario realizar más estudios para determinar la precisión del CBCT al medir longitudes en endodoncia, donde se considere una muestra mayor que incluya piezas posteriores y una metodología que incluya herramientas más sensibles.

### SUMMARY

*Determining the working length is one of the most important steps in endodontic therapy. The aim of this experimental ex vivo cross sectional study was to determine the discrepancy between the lengths obtained with electronic apex locator (LRE) versus the actual clinic length (LRC) in relation to the actual length with Cone Beam Computed Tomography (LRCB) versus the LRC. For this, 51 extracted teeth, anterior and premolars, with a single-root and single canal were selected. Lengths with electronic apex locator and CBCT were measured and compared with the actual clinic length. The results showed no significant differences between the means of the differences between LRC and LRE and between LRCB and LRC ( $p = 0.2$ ). It is stressed in the results that there is on average a difference of 0.43mm between the LRC and LRE, and an average of 0.29mm between LRCB and LRC. In conclusion, although the differences between the methods are not statistically significant, may be clinically relevant. Further studies are needed to determine the accuracy of CBCT in endodontics to measure lengths, whit a larger sample that includes later pieces and a methodology that includes sensitive tools.*

## INTRODUCCIÓN

Para realizar un tratamiento endodóntico de forma adecuada es de suma importancia trabajar a una longitud que esté de acuerdo a la anatomía única de cada diente. Es así como se han realizado numerosos estudios en relación a cuáles son los parámetros anatómicos claves y la mejor manera de determinar la longitud a la cual se debe realizar este tratamiento. Hasta ahora no existe consenso sobre la zona exacta óptima hasta donde se debe preparar los canales radiculares durante la terapia endodóntica.

Ya que la anatomía del SCR clínicamente no es observable, es necesaria la utilización de herramientas complementarias que nos ayuden a identificar parámetros anatómicos. El método más utilizado es, sin duda, la radiografía la que si bien es una gran herramienta, también posee desventajas que pueden llevar a obtener mediciones erróneas. Se han creado métodos electrónicos para determinar la longitud de trabajo, los localizadores electrónicos de foramen que se basan en las diferentes propiedades electrónicas de los tejidos dentro del canal radicular y de los tejidos periodontales. Aunque la utilización de Rx más LEF pueden llevar a una LT adecuada y a un tratamiento endodóntico exitoso, actualmente existen nuevas herramientas imagenológicas, tales como la Tomografía Computarizada Cone Beam (CBCT) que es capaz de producir imágenes digitales en tres dimensiones que permiten realizar mejores diagnósticos (Jeger, Janner, Bornstein, & Lussi, 2012) mediciones más certeras y un análisis detallado de la anatomía endodóntica. Si bien el CBCT es una herramienta muy útil en endodoncia su uso se ve limitado, ya que es una tecnología de mayor costo y que produce mayor radiación que una Rx convencional. Uno de los objetivos de este estudio es proponer el CBCT no solo como una poderosa herramienta diagnóstica sino que también como una opción para el tratamiento endodóntico en sí, utilizándolo en conjunto con el método electrónico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este es un estudio experimental transversal con variables cuantitativas. La variable utilizada fue la longitud real del diente, medida en mm, la que se define como la longitud obtenida desde el punto más coronal (cúspide más alta) hasta el punto más apical del diente (salida del foramen apical). La longitud real del diente se midió a través de tres métodos:

- Longitud real clínica (LRC): Esta se midió con una lima endodóntica al interior del canal, tomando como límite apical cuando se observaba la lima a nivel del foramen apical (por visión directa).
- Longitud real con Cone Beam (LRCB): El LRCB fue medido en un corte digital a través de un software (One Volume Viewer V. 1.6), donde el límite apical era el foramen apical mayor.
- Longitud real electrónica (LRE): Esta se obtuvo introduciendo al canal radicular, una lima endodóntica conectada a un LEF. El punto más apical se identificó cuando el aparato indicaba 00 (Indicando el foramen apical mayor).

En este estudio se utilizaron 51 dientes extraídos y elegidos al azar. Según lo que se obtuvo calculando la muestra con el programa GRANMO para dos medias independientes, aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, se necesitaban 51 dientes en el primer grupo y 51 en el segundo para detectar una diferencia igual o superior a 5 unidades, en este caso corresponde a diferencias de 0.5mm. Se asumió que la desviación estándar común de la muestra es de 9 (Se estimó una tasa de pérdidas de seguimiento del 0%).

Se utilizaron dientes con cavidad de acceso realizada en el pre clínico de 4<sup>to</sup> año de la cátedra de endodoncia de la Universidad del Desarrollo.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: dientes anteriores y premolares superiores e inferiores, unirradiculares, con canal único con cavidad de acceso previamente realizada en el preclínico antes mencionado.

Los criterios de exclusión fueron: piezas temporales, piezas posteriores, piezas con formación radicular incompleta, piezas con restauraciones metálicas, piezas con obturación endodóntica, piezas con fractura de instrumentos en el SCR y fracturas radiculares. Este criterio se llevó a cabo a través de un examen visual.

Este estudio se llevó a cabo desde junio del 2012 a julio del 2012 en la clínica de la Universidad del Desarrollo. Los equipos necesarios fueron otorgados por dicha universidad y el instrumental fue proporcionado por el operador. Las imágenes Cone Beam fueron tomadas en el centro radiológico IMAX, a cargo de un experto en radiología.

Los siguientes procedimientos y mediciones fueron realizados en cada uno de los dientes, todas las mediciones fueron realizadas por un solo operador entrenado.

1. Primero se rotularon los dientes con números de 1 al 51.
2. Luego se tomaron los CBCT con las piezas montadas en blocks de cera. Cada block contenía 5 dientes y uno de ellos tenía 6. Todas las muestras se tomaron con el tomógrafo 3D Accuitomo 80 (J. Morita, Kioto, Japón) con un KV de 60 y un MA de 3.5. Se utilizó el modo de escaneo de 360° con un tamaño de voxels de 0.125mm y un FOV de 60x60mm. Todos los cortes fueron reconstruidos con 1.0mm de espesor e intervalos de 0.5mm. Se analizaron los CBCT en los tres planos del espacio y se eligió el corte vestibulo-lingual que fuera más representativo de la anatomía general del diente. Usualmente correspondió al corte que pasaba por el centro del canal. Luego de seleccionar el corte se utilizó la herramienta de ampliación digital de la imagen (Lupa) y la herramienta de medición de longitud. Se trazó una línea desde el punto coronal (incisal) pasando por la línea media de la cavidad pulpar hasta el punto más apical (foramen apical mayor) (Figura 1).
3. Para determinar la LRE, se utilizó el localizador electrónico de foramen Elements Diagnostic (SybronEndo, CA, USA) facilitado por la Universidad del Desarrollo. En cada una de las piezas se preparó el tercio coronal y medio, con fresas Gates.

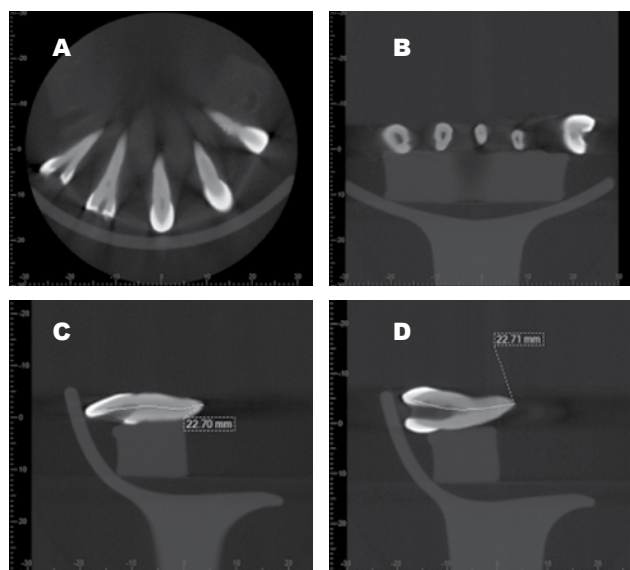


Figura 1. (a) Vista transversal de los dientes montados en block de cera, (b) Vista coronal de los dientes montados en block de cera, (c y d) corte mesio distal de una pieza con su respectiva medición.

Para simular las condiciones eléctricas de los tejidos que rodean al diente, se montaron las piezas en una plataforma de alginato (Tropical gin, Zhermak Clinical). Este fue preparado con la relación polvo/agua indicadas por el fabricante y puesto en un vaso plástico. Se utilizó por no más de 20 minutos para evitar la deshidratación y se modificaron las lecturas del LEF. Luego se utilizaron limas K marca Maillefer. Dependiendo de la anatomía de cada pieza se utilizaron limas de la 10 a la 20 y con longitudes de 28 y 31 mm. Se humedeció el canal de cada una de las piezas dentarias con suero fisiológico (0-9%) en una jeringa monojet y se eliminó el exceso con un eyector endodóntico, se introdujo una lima k adecuada para la anatomía de cada diente. Se conectó el clip labial (electrodo) del LEF al alginato, y el otro electrodo a la lima dentro del canal. Se introdujo la lima en el canal hasta que en la pantalla del LEF aparecía "00" que indicaba que la lima se encontraba a la salida del foramen apical mayor. Luego se ajustó el tope de silicona de la lima a la cúspide más alta, se midió con una regla endodóntica y se registro en una planilla (Figura 2).

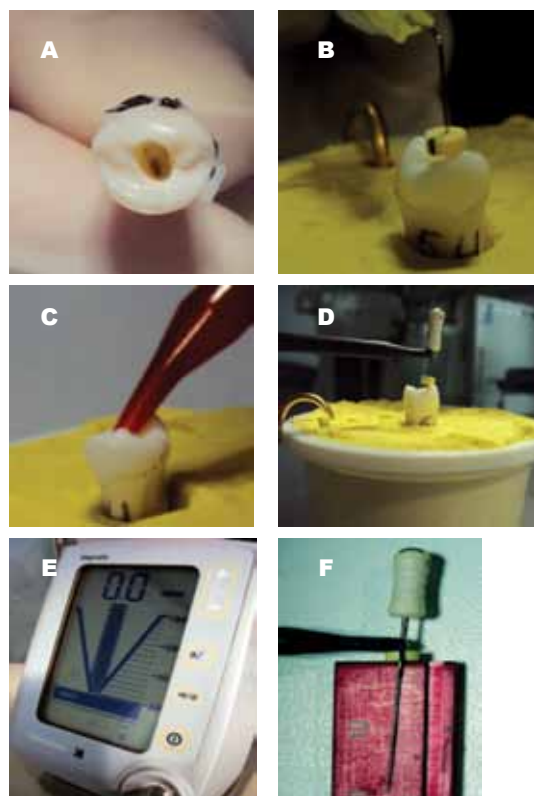


Figura 2. Pasos de la medición de LRE (a) Acceso endodóntico previamente realizado, (b) Irrigación con suero, (c) eyector endodóntico para la eliminación del exceso de suero, (d) medición electrónica con un electrodo conectado a la lima, otro electrodo al alginato y con el tope de silicona en la cúspide más alta (e) medición 00 en el LEF y (f) medición de longitud electrónica con regla endodóntica.

- Por último, para determinar la LRC se introdujo una lima K (Maillefer) en relación al diámetro del diente y se observó la salida de la punta del instrumento por el foramen apical mayor con una lupa 4X (Lactona), luego se retiró el instrumento, se midió la distancia entre el tope de silicona y la punta de la lima K y se registro en una planilla (Figura 3).

Para construir la base de datos se utilizó el software Microsoft Excel 2010. Los resultados para la discrepancia entre los promedios de la longitud real electrónica con longitud real clínica y longitud real con CBCT con longitud real clínica se sometieron al test de Shapiro Wilk dando como resultado que no existe normalidad en los datos por lo que se realizó el test no paramétrico Mann-Whitney donde se consideró una diferencia estadísticamente

significativa cuando el valor de  $p$  es menor que 0.05 y se usó un intervalo de confianza del 95%. Ambos test se realizaron con el software Stata V 9.1.



Figura 3.  
Medición de longitud real clínica.

## RESULTADOS

Se midió la longitud real (en milímetros) de 51 dientes anteriores y premolares, superiores e inferiores, unirradiculares y de un canal. La distribución de las longitudes obtenidas con distintos métodos se muestra en la figura 5.

Se determinaron las diferencias en mm entre la LRC (longitud real clínica) con la LRE (longitud real electrónica) y entre la LRC con la LRCB (longitud real con CBCT) (Figura 4).

Se determinó la media aritmética de las diferencias entre los distintos métodos (Tabla I). El promedio de la LRE fue de 20,9mm con un mínimo de 18,0mm y un máximo de 24,0mm y el promedio de la LRCB fue de 21,1mm con un mínimo de 17,7 y un máximo de 24,2. Por último el promedio de la LRC fue de 21,2 mm con un mínimo de 17,9mm y un máximo de 24mm.

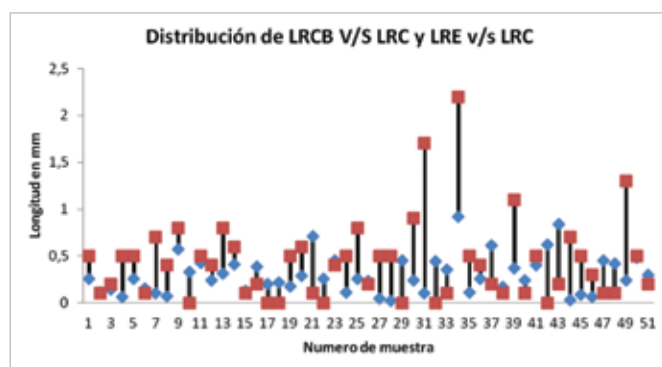


Figura 4. Diferencias en mm entre LRCB v/s LRC (azul) y entre LRE v/s LRC (rojo).

El análisis estadístico mostró que no existe una discrepancia significativa entre los promedios de las diferencias entre la LRC con la LRE y entre la LRC con la LRCB con un  $p = 0.2$ .

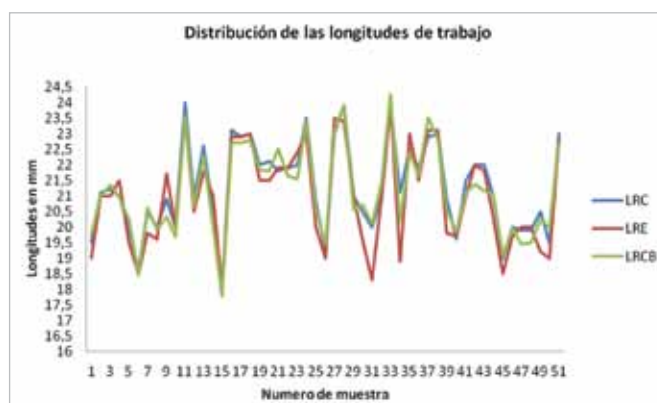


Figura 5. Distribución de las longitudes de trabajo.

Tabla I  
Datos estadísticos de las diferencias en milímetros de LRC v/s LRCB y entre la LRC v/s LRE.

|              | Media de las diferencias | Desviación estándar | Menor diferencia | Mayor diferencia | $p^*$ |
|--------------|--------------------------|---------------------|------------------|------------------|-------|
| LRC v/s LRCB | 0.29                     | 0.20                | 0.02             | 0.92             | 0.2   |
| LRC v/s LRE  | 0.43                     | 0.43                | 0                | 2.2              |       |

\* $p$  obtenido con Mann-Whitney

## DISCUSIÓN

La obtención de la longitud de trabajo siempre ha sido uno de los pasos más importantes y controversiales de la terapia endodóntica. Para lo cual existen herramientas imagenológicas y electrónicas que permiten analizar la anatomía endodóntica de forma indirecta. Sin embargo, estos métodos poseen numerosas desventajas que pueden disminuir su utilidad en endodoncia (Ravanshad et al, 2010, Grondahl & Huuonen, 2004). Una herramienta que podría superar estas desventajas es el CBCT. Se ha descrito su uso en el estudio diagnóstico y plan de tratamiento en patologías endodónticas (S. Patel, 2009), pero existe poca evidencia científica que avale su utilidad en la terapia endodóntica en sí.

El objetivo de este estudio fue determinar la diferencia existente entre la longitud real electrónica (LRE) con la longitud real clínica (LRC) y la longitud obtenida con CBCT (LRCB) con la LRC. Es relevante señalar que el cálculo de las diferencias entre las longitudes de los distintos métodos, fue realizado con números absolutos (sin signos) para evitar errores producidos por la anulación de valores, por lo que este estudio pudo tener diferencias en la metodología con otros estudios similares, de manera que no se contrarrestaran las mediciones sobre proyectadas al periápice con las mediciones cortas.

Se obtuvo como resultado que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.22$ ) entre ambos métodos al compararlos con la longitud real clínica (LRC).

Las diferencias entre LRE y LRC variaron desde los 0mm a 2.2mm, con una media de 0.43mm. El 76.4% de las diferencias fue menor a 0.5mm con el método electrónico y 4 diferencias fueron mayores a 1mm. Aunque en este estudio la diferencia estadística entre ambos métodos no es significativa, clínicamente puede ser relevante, ya que un promedio de las diferencias de 0.43mm con la LRC puede llevar al fracaso del tratamiento endodóntico. Además la diferencia entre LRE y LRC puede ser hasta 1.38mm mayor que la diferencia entre LRCB y LRC.

Se describe que los LEF modernos tienen una precisión mayor al 90% pero aun tienen algunas limitaciones (Gordon et al, 2004). En un estudio ex vivo donde se determinó la precisión de 3 LEF en comparación con la longitud real del diente, se obtuvo un rango de diferencias de 0 a 1.67mm, resultados concordantes con los de Cianconi et al en el 2010, en ambos estudios se utilizó como referencia el

foramen apical mayor. En otro estudio realizado por Guise et al en el 2010, mostró que el promedio de las diferencias entre el método electrónico y la medición real era de 0.15, 0.13 y 0.02 en distintos LEF.

En este estudio el promedio de la diferencias de LRE VS LRC fue notablemente mayor que la observada en la literatura. Esta diferencia en los resultados puede deberse principalmente a que existen datos que se escapan en gran magnitud de la media (0.43mm) como es la diferencia de 2.2mm. Lo que produjo que la media aritmética de las diferencias fuera mayor. Si se elimina el dato de 2.2mm, la mayor diferencia sería 1.7mm y el promedio disminuye a 0.4mm, el que seguiría siendo mayor en relación al promedio del método con CBCT (0.29). Se analizó anatómicamente y en cortes de CBCT del diente en busca de factores que pudieran modificar la medición del LEF. Al examen visual directo se observó que existe un foramen apical amplio. En el corte de CBCT se observó que el diente presenta un canal amplio, con irregularidades y un foramen apical objetivamente amplio. Esta variación en la anatomía podría explicar el error en la medición electrónica, ya que un foramen apical de mayor tamaño modifica las características de resistencia eléctrica dentro del canal afectando su medición (Fan et al, 2006).

En relación a la diferencia entre LRCB VS LRC los resultados mostraron un rango de 0.02mm a 0.92mm con una media de 0.29mm, diferencias menores en comparación con las del método electrónico. El 88.2% de las diferencias es menor a 0.5mm en el método con CBCT y ninguna diferencia fue mayor a 1 mm. En dos estudios realizados en el 2011 y 2012 por Janner et al y Jeger et al respectivamente, se compararon las mediciones de longitud de trabajo con método electrónico y CBCT de volumen limitado. Los estudios concluyeron que el CBCT puede ser utilizado para la medir la LT con una precisión similar a la del método electrónico.

Limitaciones de este estudio se pueden relacionar a la metodología ya que muchos pasos eran operador dependiente. También se debe tener en cuenta que es un estudio ex vivo donde se utilizó alginato para la determinación mediante LEF que, aunque respaldado por la literatura (Baldi, Victorino, Bernardes, de Moraes, Bramante, Garcia y Bernardineli; 2007), puede llevar a errores o discrepancias con la realidad clínica.

Con los resultados obtenidos se puede exponer que el CBCT presenta una mayor precisión que la del método electrónico, donde las diferencias entre ambos métodos no son estadísticamente significativas pero pueden ser clínicamente relevantes. Por lo que su gran utilidad para realizar mediciones concuerda con la descrita en la literatura (Michetti et al, 2010; Kobayashi et al; 2004). La utilización del CBCT únicamente para la realización de mediciones endodónticas no se recomienda, y se sugiere en casos donde el mayor costo y radiación se justifique. Sin embargo la utilización de CBCT previo al tratamiento en conjunto con un LEF disminuye la necesidad de toma de Rx, a una sola Rx de control luego del tratamiento (Jeger et al, 2012).

Es necesario realizar más estudios para determinar la precisión del CBCT al medir longitudes en endodoncia. Dentro de las limitaciones de este estudio se encuentran el tamaño de la muestra y la falta de herramientas más sensibles para medir la longitud real clínica (microscopio). Además sería de gran utilidad la realización de estudios in vivo con muestras más grandes. Por último, se podrían realizar estudios que analicen piezas con anatomía radicular compleja y la utilidad del CBCT para lograr un mejor pronóstico al pesquisar canales inadvertidos.

## CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio permiten aceptar la hipótesis que “no existe discrepancia significativa entre la diferencia de la longitud real electrónica y la longitud real clínica versus la diferencia entre la longitud real con CBCT y la longitud real clínica” por lo que ambos métodos se podrían utilizar para determinar longitudes en endodoncia.

Aunque estadísticamente la diferencia entre ambos métodos no es significativa, si puede tener relevancia clínica en ciertos casos. El método electrónico por su parte, presenta más variaciones en relación a la longitud real del diente que el CBCT y su precisión se puede ver afectada frente a distintas situaciones clínicas.

Si bien el CBCT es una excelente herramienta imagenológica, que entrega muchas ventajas sobre otras técnicas, también posee desventajas importantes como la dosis de radiación por lo que no estaría indicado para todos los casos, por otro lado los LEF permite lecturas rápidas y sin irradiar al paciente.

Surgen a partir de estudios preguntas sobre la verdadera dosis de radiación al utilizar el CBCT versus las múltiples radiografías al realizar un tratamiento endodóntico y la ventaja en el pronóstico que entregaría en comparación a las técnicas basadas en radiografías y LEF.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baldi, J., Victorino, F., Bernardes, R., de Moraes, I., Bramante, C., Garcia, R., y otros. (2007). Influence of embedding media on the assessment of electronic apex locators. *Journal of endodontics*, 33(4), 476-9.
- Cianconi, L., Angotti, V., Felici, R., Conte, G., & Mancini, M. (2010). Accuracy of three electronic apex locators compared with digital radiography: an ex vivo study. *Journal of endodontics*(12), 2003-2007.
- Fan, W., Fan, B., Gutmann, L., Bian, Z., & Fan, M. (2006). Evaluation of the accuracy of three electronic apex locators using glass tubules. *international endodontics journal*, 39, 127-135.
- Gordon, M. P., & Chandler, N. (2004). Electronic apex locators: review. *International endodontics journal*(37), 425-437.
- Grondahl, H.-G., & Huuonen, S. (2004). Radiographic manifestations of periapical inflammatory lesions. *Endodontics Topics*, 8, 55-67.
- Guise, G. M., Goodell, G. G., & Imamura, G. M. (2010). In vitro comparison of three electronic apex locators. *Journal of endodontics*, 36(2), 279-281.
- Janner, S., Jeger, F., Lussi, Adrian, & Bornstein, M. (2011). Precision of Endodontic Working Length Measurements: APilotInvestigation Comparing Cone-Beam Computed Tomography Scanning with Standard Measurement Techniques. *Journal Of endodontics*, 37(8), 1046-1051.
- Jeger, F., Janner, S., Bornstein, M., & Lussi, A. (2012). Endodontic Working Length Measurement with Preexisting Cone-Beam Computed Tomography Scanning: A Prospective, Controlled Clinical Study. *Journal Of Endodontics*, 38, 884-888.
- Kobayashi, K., Shimoda, S., Nakagawa, Y., & Yamamoto, A. (2004). Accuracy in measurement of distance using limited cone-beam computerized. *International journal of Oral Maxillofacial Implants*, 19(2), 228-31.
- Patel, S. (2009). New dimensions in endodontics imaging: Part 2. Cone beam computed tomography. *International endodontic journal*(42), 463-475.
- Ravanshad, S., Adl, A., & Anvar, J. (2010). Effect of Working Length Measurement by Electronic Apex Locator or Radiography on the Adequacy of Final Working Length: A Randomized Clinical Trial. *Journal of endodontics*, 36(11), 1753-56.

## Actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina en aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*

*Antimicrobial activity of Allium sativum extract and chlorhexidine digluconate on clinical isolates of Enterococcus faecalis*



Hernán Mijail Percca M.<sup>1</sup>



Marco Tulio Palomino M.<sup>2</sup>



Roky Giovanni Champi M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Cirujano-Dentista. Universidad Inca Garcilaso de la Vega (UIGV).

<sup>2</sup> Cirujano-Dentista. Universidad Nacional Federico Villareal (UNFV). Odontólogo Asistente. Servicio de Endodoncia, Departamento de Odontoestomatología, Hospital Nacional Hipólito Unanue, Lima, Perú.

<sup>3</sup> Licenciado en Tecnología Médica - Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM)  
Tecnólogo Médico. Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular, Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima, Perú.

### RESUMEN

**Objetivo:** El presente estudio fue realizado para determinar la actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina en aislamientos de *Enterococcus faecalis* de infecciones endodónticas primarias. **Materiales y Métodos:** A partir de 41 muestras de pacientes con infecciones endodónticas primarias, que fueron atendidos en el Servicio de Endodoncia del Departamento de Odontoestomatología del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo Agosto a Octubre del año 2012, se aislaron 14 (34,14%) cepas de *Enterococcus faecalis*. Para la elaboración del extracto de *Allium sativum*, se utilizó un cultivar de ajo peruano (ajo morado arequipeño). Se determinó la concentración mínima inhibitoria del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina por el método de macrodilución en caldo; luego, se determinó la concentración mínima bactericida mediante subcultivación en agar. Para el análisis de los datos se utilizó la prueba t de Student para muestras

relacionadas. **Resultados:** En los aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*, se observó que los valores de la concentración mínima inhibitoria del extracto el extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina se encontraban entre 2 343,75 µg/ml hasta 9 375 µg/ml y 2,5 µg/ml hasta 5 µg/ml respectivamente; además, se determinó que no existe diferencia entre la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida para el extracto de *Allium sativum*; sin embargo, si existe una diferencia significativa ( $p=0.029$ ) entre estos valores para el digluconato clorhexidina. **Conclusión:** El extracto de *Allium sativum* y el digluconato de clorhexidina presentan actividad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*.

**Palabras clave:** Infección endodóntica primaria, *Enterococcus faecalis*, clorhexidina, *Allium sativum*, concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida

Correspondencia

Hernán Mijail Percca M. Jr.

Los Jaspes #2227. Coop. La Huayrona. San Juan de Lurigancho. Lima 31, Perú

e-mail: hm\_perccami@outlook.com Teléfono: 993671590/2862680

## ABSTRACT

**Aim:** antimicrobial activity of *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate in isolates of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections. **Materials and Methods:** Starting from 41 samples from patients with primary endodontic infections which were treated at Servicio de Endodoncia del Departamento de Odontoestomatología del Hospital Nacional Hipólito Unanue during the period from August to October 2012, strains of *Enterococcus faecalis* were isolated from 14. To prepare the *Allium sativum* extract with the antimicrobial agent, It was used a Peruvian type of *Allium sativum* (ajo morado arequipeño). The minimum inhibitory concentration of *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate was determined by macrodilution method, and then the minimum bactericidal concentration was determined by subcultivation on agar. Student *t* test was used for statistical analysis. **Results:** For

clinical isolates of *Enterococcus faecalis*, it was observed that the minimum inhibitory concentration values for the *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate were among to and to respectively, in addition, it was determined that there is no significant difference between minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration for the *Allium sativum* extract, however, there is a significant difference between these values for CHX ( $p=0.029$ ). **Conclusion:** *Allium sativum* extract and chlorhexidine digluconate have got antimicrobial activity in clinical isolates of *Enterococcus faecalis*.

**Keywords:** Primary endodontic infection, *Enterococcus faecalis*, chlorhexidine, *Allium sativum*, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration.

## INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son la principal causa de enfermedades pulpares y periapicales.<sup>1</sup> Por eso, uno de los principales objetivos de la terapia endodóntica es la reducción de la carga bacteriana, que promoverá el proceso curativo normal de los tejidos periodontales.<sup>2</sup>

*Enterococcus faecalis*, coco gram-positivo anaerobio facultativo, ha sido considerada una de las especies más resistentes en la cavidad oral y una posible causa de la enfermedad post-tratamiento endodóntico.<sup>3</sup> En las infecciones endodónticas primarias, que son usualmente polimicrobianas,<sup>4</sup> se pueden aislar cepas de *E. faecalis*, dependiendo del método utilizado.<sup>5</sup> Numerosas investigaciones han sido dirigidas para encontrar maneras efectivas para erradicar o prevenir que *E. faecalis* tenga acceso al sistema de conductos radiculares. Los estudios sobre las soluciones desinfectantes a base de hipoclorito de sodio, ácido cítrico, hidróxido de calcio, sales de yodo, clorhexidina, MTAD (Mixtura de isómero de tetraciclina, un ácido y un detergente), agua ozonizada y fluoruro estañoso han demostrado ser efectivas contra *E. faecalis*.<sup>6</sup>

El digluconato de clorhexidina (CHX) es un potente antiséptico, sin embargo, no puede ser usado como un irrigante principal en el tratamiento endodóntico

convencional porque es incapaz de disolver tejido necrótico remanente y es más efectiva frente a cocos gram-positivos y menos activa frente a bacilos gram-positivos y gram-negativos.<sup>7</sup> Además, los estudios sugieren que CHX es altamente citotóxico *in vitro*, por lo que se debería tener cuidado en su administración durante procedimientos quirúrgicos orales.<sup>8</sup>

El *Allium sativum* (Ajo) ha sido conocido por tener propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antivirales. El principal componente del ajo, la alicina, es generado por la enzima alinasa cuando el ajo es molido.<sup>9</sup> El extracto de *Allium sativum* presenta actividad antimicrobiana frente a especies bacterianas orales, particularmente especies gram-negativas,<sup>10</sup> y frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.<sup>11</sup> Sin embargo, no se ha estudiado la actividad antimicrobiana de un extracto de *Allium sativum* frente a aislamientos clínicos de *E. faecalis* en nuestro medio.

El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina en aislamientos clínicos de *E. faecalis*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Pacientes

Fueron incluidos en el estudio 41 pacientes atendidos en el Servicio de Endodoncia del Departamento de Odontoestomatología del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el periodo Agosto a Octubre del año 2012. Todos los procedimientos clínicos fueron revisados y aprobados por el Comité Institucional de Ética en Investigación del Hospital Nacional Hipólito Unanue. No fueron incluidos los pacientes que no podían tolerar el uso de aislamiento absoluto, que habían recibido terapia antibiótica 3 meses previos al tratamiento o que padecían de patologías sistémicas o de condiciones médicas, que podían influir en el estado periodontal. Las piezas dentarias de los pacientes seleccionados debieron presentar evidencia radiográfica asociada a una lesión radiolúcida periapical, adecuado tamaño coronal para el aislamiento absoluto y no haber recibido tratamiento endodóntico previo.

### Protocolo Clínico y Recolección de Muestras

Las piezas dentarias fueron pulidas con piedra pómez y luego, sometidas a aislamiento absoluto. Las superficies dentarias, diques de goma, clamps y eugenato de zinc fueron desinfectados mediante lavado con peróxido de hidrógeno al 30% hasta que no se observó burbujeo evidente. Luego, hipoclorito de sodio al 2,5% fue aplicado por 1 minuto. Finalmente, se utilizó una solución estéril de tiosulfato de sodio al 5% para inactivar residuos de hipoclorito de sodio. Los procedimientos de desinfección fueron repetidos después de la preparación de la cavidad de acceso usando fresas diamantadas en una pieza de mano de alta velocidad.<sup>12</sup> La longitud de los conductos radiculares fue determinada radiográficamente usando una K-file #20. Para la obtención de la muestra, se colocó una punta de papel estéril a lo largo del conducto radicular por 1 minuto. En piezas monorradiculares, este procedimiento se realizó 2 veces, porque los conductos son más anchos. Una vez retirada del conducto, la punta de papel fue introducida inmediatamente en el medio de transporte AMIES, que es un agar gel sin carbón (COPAN Venturi Transystem®) para ser enviado al laboratorio de Microbiología del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica de Hospital Nacional Hipólito Unanue.

### Aislamiento Bacteriano y Condiciones de Conservación

Se utilizó como control una cepa de *E. faecalis* ATCC® 29212. Las muestras clínicas se cultivaron en agar sangre

de carnero, agar azida bilis esculina, agar McConkey, agar manitol salado y caldo tioglicolato. Estos medios fueron incubados a  $35\pm 2$  °C por 24 horas. A las muestras que presentaron colonias sugestivas de *E. faecalis*, se les realizó la coloración Gram e identificación bioquímica. Los aislamientos clínicos de *E. faecalis* fueron conservados en caldo tripticasa de soya con glicerol al 20% v/v y en mantenidos en congelación a -20 °C.

### Extracto de *Allium sativum*

100gr de bulbos de ajo morado arequipeño frescos fueron pelados y procesados en un extractor de jugos (OSTER® Express model 333-88), que fue desinfectado previamente con una solución de digluconato de clorhexidina al 1.5% (ROKER® SAFE BLON-H). Se obtuvieron 30 ml de extracto de *Allium sativum*. El extracto fue alicuotado en contenedores estériles y en congelación -20 °C hasta ser requeridas.

### Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Los aislamientos clínicos de *E. faecalis*, que estaban conservados en congelación, fueron sembrados en agar sangre de carnero 24 horas antes de la prueba de sensibilidad. La concentración de los inóculos fue ajustada a  $1\times 10^6$  UFC/ml. La concentración inicial del extracto de *Allium sativum* fue 30 000 µg/ml. Los agentes antimicrobianos fueron diluidos desde 1:2 hasta 1:512. Los tubos de ensayo N°2 al N°12 recibieron 1 ml de caldo Mueller-Hinton cada uno. Luego, Los tubos de ensayo N°1 y N°2 recibieron 1 ml del extracto de *Allium sativum*. El tubo de ensayo N°2 se mezcló cuidadosamente con un vortex mixer. Después, 1 ml del contenido del tubo de ensayo N°2 fue adicionado al tubo de ensayo N°3 y mezclado cuidadosamente con el vortex mixer (SA7 Stuart). Este proceso fue realizado sucesivamente hasta el tubo de ensayo N°10, de donde se descartó 1ml del contenido final. El mismo procedimiento fue realizado para CHX (MAQUIRA INDÚSTRIA DE PRODUTOS ODONTOLOGICOS LTDA, Maringá, Paraná, Brasil), cuya concentración inicial fue 20 000 µg/ml. Para determinar la CMI se ajustó la concentración de CHX a 320 µg/ml. Finalmente, 1ml de inóculo de un aislamiento clínico de *E. faecalis* fue adicionado a los tubos de ensayo 1 al 11. La serie de tubos de ensayo fueron incubados a  $35\pm 2$  °C por 16 a 20 horas. La CMI se definió a simple vista por la falta de turbidez del caldo, para ello se comparó cada tubo con el tubo de ensayo N°11, que fue el control de crecimiento. El tubo de ensayo N°12 fue el control de esterilidad.<sup>13</sup>

### Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

Alícuotas (10µl) de caldo procedente de los tubos que no presentaron turbidez fueron sembrados en placas con agar Mueller-Hinton y se incubaron en ambiente aeróbico con una temperatura de 35±2 °C. Los resultados preliminares se analizaron a las 24 horas y los resultados finales, a las 48 horas. Según Pearson *et al*,<sup>14</sup> el punto de corte para un inóculo inicial con una concentración de 1×10<sup>6</sup> UFC/ml fue de 47 colonias.

Los datos fueron procesados y analizados mediante el programa SPSS versión 20. Para el análisis univariado se procedió a obtener la media, la moda y la desviación estándar de las variables de estudio, registrada en una tabla de frecuencias. Además, para conocer la relación entre la CMI y la CMB de los agentes antimicrobianos se realizó la prueba t de Student para muestras relacionadas con una significancia estadística de p=0,05.

## RESULTADOS

*E. faecalis* fue recuperado en 14 (34.14%) de 41 piezas dentarias con infecciones endodónticas primarias mediante métodos de cultivo (Figura 1). En todas las muestras positivas, *E. faecalis* coexistió con otros géneros bacterianos. *E. faecalis* no fue identificado en 27 (66.85%) del total de muestras; sin embargo, se aislaron otros géneros bacterianos (Figura 1).

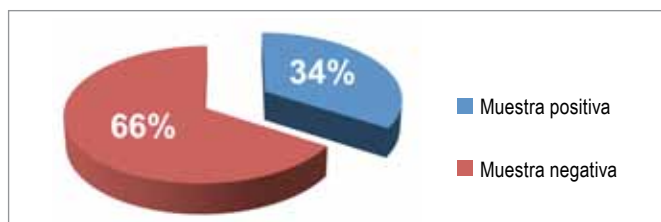


Figura 1 Frecuencia de aislamientos de *E. faecalis* en infecciones endodónticas primarias. Servicio de Endodoncia. Departamento de Odontostomatología. Hospital Nacional Hipólito Unanue. Agosto 2012 – Octubre 2012.

Los valores obtenidos de CMI y CMB son enumerados en la Tabla I. El extracto de *Allium sativum* presentó valores de CMI de 2343.75, 4687.5 y 9375 µg/ml en los aislamientos; además, presentó valores de CMB de 2343.75, 4687.5 y 9375 µg/ml respectivamente. Mientras tanto, CHX presentó valores de CMI de 2.5 y 5 µg/ml para los aislamientos clínicos de *E. faecalis*; asimismo, presentó valores de CMB de 2.5, 5 y 10 µg/ml para estas bacterias.

Al analizar los valores obtenidos por los agentes antimicrobianos, se encontró que la CMI del extracto de

*Allium sativum* presentó una media de 4 854.89 µg/ml con una desviación estándar de 1 443,15 µg/ml. Al comparar se encontró que los valores de la CMI y la CMB del extracto de *Allium sativum* eran iguales, por lo que no pudo realizarse la prueba de T para muestras relacionadas (Tabla II).

La CMI del CHX presentó una media de 3.57 µg/ml con una desviación estándar de 1.28 µg/ml. Al comparar se encontró que los valores de la CMI y la CMB del CHX mostraron diferencia significativa (p=0.029) (Tabla III).

**Tabla I**  
Actividad antimicrobiana (CMI y CMB) del extracto de *Allium sativum* y CHX en aislamientos clínicos de *E. faecalis*

| Unidad de análisis | Código de Aislamiento | Extracto de <i>Allium sativum</i> |           | CHX       |           |
|--------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|
|                    |                       | CMI µg/ml                         | CMB µg/ml | CMI µg/ml | CMB µg/ml |
| 1                  | 2                     | 4 687,5                           | 4 687,5   | 2,5       | 2,5       |
| 2                  | 5                     | 9 375                             | 9 375     | 5         | 5         |
| 3                  | 8                     | 4 687,5                           | 4 687,5   | 5         | 5         |
| 4                  | 11                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 5         | 5         |
| 5                  | 12                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 2,5       | 5         |
| 6                  | 13                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 5         | 10        |
| 7                  | 15                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 2,5       | 5         |
| 8                  | 19                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 2,5       | 2,5       |
| 9                  | 20                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 2,5       | 5         |
| 10                 | 30                    | 2 343,5                           | 2 343,5   | 5         | 10        |
| 11                 | 34                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 5         | 5         |
| 12                 | 35                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 2,5       | 2,5       |
| 13                 | 36                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 2,5       | 2,5       |
| 14                 | 41                    | 4 687,5                           | 4 687,5   | 2,5       | 2,5       |

**Tabla II**  
Evaluación estadística de la actividad antimicrobiana (CMI y CMB) del extracto de *Allium sativum* en aislamientos clínicos de *E. faecalis*

| Grupo     | Media    | Moda    | Minima  | Máxima | Desviación estándar |
|-----------|----------|---------|---------|--------|---------------------|
| CMI µg/ml | 4 854,89 | 4 687,5 | 2 343,5 | 9 375  | 1 443,15            |
| CMB µg/ml | 4 854,89 | 4 687,5 | 2 343,5 | 9 375  | 1 443,15            |

La prueba T no pudo ser realizada.

**Tabla III**  
Evaluación estadística de la actividad antimicrobiana (CMI y CMB) del CHX en aislamientos clínicos de *E. faecalis*

| Grupo     | Media | Moda | Minima | Máxima | Desviación estándar |
|-----------|-------|------|--------|--------|---------------------|
| CMI µg/ml | 3,57  | 2,5  | 2,5    | 5      | 1,28                |
| CMB µg/ml | 4,82  | 5    | 2,5    | 10     | 2,49                |

Prueba T (p=0,029).

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* y del CHX en aislamientos clínicos de *E. faecalis*. Dos pruebas de sensibilidad, CMI y CMB, fueron usadas en este estudio. Se determinó la CMI de los agentes antimicrobianos por el método de macrodilución en caldo y la CMB, por subcultivación en agar. *E. faecalis* fue seleccionado porque ha sido considerada una de las especies más resistentes en la cavidad oral y una posible causa de la enfermedad post-tratamiento endodóntico.<sup>3</sup>

En este estudio, 2 343.75, 4 687.5 y 9375 µg/ml de extracto de *Allium sativum*, mostraron efectos inhibitorios frente al *E. faecalis* en las pruebas de CMI, mientras CHX puede lograr el mismo efecto a concentraciones de 2.5 y 5 µg/ml. Los valores de CMB fueron iguales a los valores de la CMI del extracto de *Allium sativum*; sin embargo, se presentaron diferencias significativas entre los valores de la CMI y la CMB de la CHX, en su mayoría, aunque fueron una dilución menos.

Bakri y Douglas<sup>10</sup> demostraron que el extracto acuoso de *Allium sativum* tiene actividad antimicrobiana frente a una cepa clínica de *E. faecalis*, en nuestro estudio, los valores de la CMI y la CMB del extracto de *Allium sativum* fueron menores que los reportados por estos autores (CMI=71.4 mg/ml y CMB>571 mg/ml). La diferencia de estos valores puede deberse a la concentración del principio activo del *Allium sativum* en cada uno de los extractos usados. Kundaković *et al*<sup>15</sup> demostraron que el polvo de *Allium sativum* tiene actividad antimicrobiana frente a una cepa control ATCC® 29212 de *E. faecalis*. Aunque el procesado del *Allium sativum* fue diferente, el valor de la CMI (5 000 µg/ml) fue similar a los valores obtenidos por el presente estudio. Se puede relacionar con que ambos procesados de *Allium sativum* contienen suficiente principio activo para poder inhibir el crecimiento del *E. faecalis*.

CHX a altas concentraciones provocó una turbidez blanquecina al contactar con el caldo Mueller-Hinton.

Lotfi *et al*<sup>16</sup> reportaron una experiencia similar, que les impidió determinar la CMI para una cepa control ATCC® 2367 de *E. faecalis* por el método de microdilución en caldo. Sin embargo, en el presente estudio se pudo determinar la CMI porque se ajustó su concentración al inicio del procedimiento; así, CHX al 2% fue diluido, concentración que permitió lecturas adecuadas en los medios de cultivo. Amorin *et al*<sup>17</sup> demostraron que la CMI del digluconato de clorhexidina fue 3.3 µg/ml para una cepa clínica de *E. faecalis* por el método de dilución en agar. Este valor es similar a los obtenidos en nuestro estudio. La ligera diferencia de estos valores puede deberse a la metodología para determinar la sensibilidad antimicrobiana utilizada en cada estudio. Gördüysus *et al*<sup>18</sup> afirmaron que el digluconato de clorhexidina no es efectiva frente a una cepa control ATCC® 29212 de *E. faecalis*. Sin embargo, en el presente estudio se determinó que la CMI del digluconato de clorhexidina toma valores entre 2.5 - 5 µg/ml para los aislamientos clínicos de *E. faecalis*.

## CONCLUSIONES

El extracto de *Allium sativum* y el digluconato de clorhexidina presentan efectos bactericidas en aislamientos clínicos de *E. faecalis*. Se debe valorar el posible uso terapéutico del extracto de *Allium sativum* y del digluconato de clorhexidina para tratar las infecciones endodónticas primarias, que serviría para controlar al *E. faecalis*, el más común y dominante de las especies bacterianas y, a veces, la única bacteria aislada de los dientes con enfermedad post-tratamiento.

### Agradecimientos

Al Servicio de Endodoncia del Departamento de Odontoestomatología del Hospital Nacional Hipólito Unanue, Lima, Perú.

Al Servicio de Microbiología del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica del Hospital Nacional Hipólito Unanue, Lima Perú.

El presente estudio fue autofinanciado por los autores. Los autores del presente estudio no tienen ningún conflicto de intereses.

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effect of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965; 20:340-348.
2. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in the endodontic therapy. *Scand Dent Res.* 1981; 89:321-328.
3. Gomes BPFA, Drucker DB, Lilley JD. Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int Endod J.* 1996; 29:69-75.
4. Sundqvist G. Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994; 78:522-530.
5. Williams JM, Trope M, Caplan DJ, Shugars DC. Detection and Quantitation of *E. faecalis* by Real-time PCR (qPCR), Reverse Transcription-PCR (RT-PCR), and Cultivation during Endodontic Treatment. *J Endodon.* 2006; 32(8):715-721.
6. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *J Endod.* 2006; 32(9):98.
7. Zehnder M. Root Canal irrigants. *J Endodon.* 2006; 32(5):389-398.
8. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol In Vitro.* 2008; 22(2):308-17.
9. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection.* 1999; 1(2):125-129.
10. Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Arch Oral Biol.* 2005; 50:645-651.

11. Cutler RR, Wilson P. Antibacterial activity of a new stable aqueous extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Br J Biomed Sci.* 2004; 61:71-74.
12. Ng Y, Spratt D, Sriskantharajah S, Gulabivala K. Evaluation of Protocols for Field Decontamination Before Bacterial Sampling of Root Canals for Contemporary Microbiology Techniques. *J Endodon.* 2003; 29(5):317-320.
13. Sacaquispe-Contreras R, Velásquez-Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud; 2002.
14. Pearson RD, Steigbigel RT, Davies HT, Chapman SW. Method for reliable determination of minimal lethal antibiotic concentration of inoculum. *Antimicrob Agents Chemother.* 1980; 18:699-708.
15. Kundaković TD, Ćirić AD, Soković MD, Milenković MT, Nikolić VD, Nikolić GS. Antimicrobial activity of lozenge with garlic bulb powder. *Hem Ind.* 2011; 65(5):607-610.
16. Lotfi M, Vosoughhosseini S, Ranjesh B, Khani S, Saghiri M, Zand V. Antimicrobial efficacy of nanosilver, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate against *Enterococcus faecalis*. *Afr J Biotechnol.* 2011; 10(35):6799-6803.
17. Amorin CV, Aun CE, Mayer MP. Susceptibility of some oral microorganisms to chlorhexidine and paramonochlorophenol. *Braz oral res.* 2004; 18(3):242-246.
18. Gördüysus M, Tuncel B, Nagaş E, Ergunay K, Yurdakul P, Torun ÖY, Ergüven S, Gördüysus Ö. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Clinical Dentistry and Research.* 2011; 35(1): 41-46.

24

## PROTAPER•NEXT™ el futuro estándar de oro

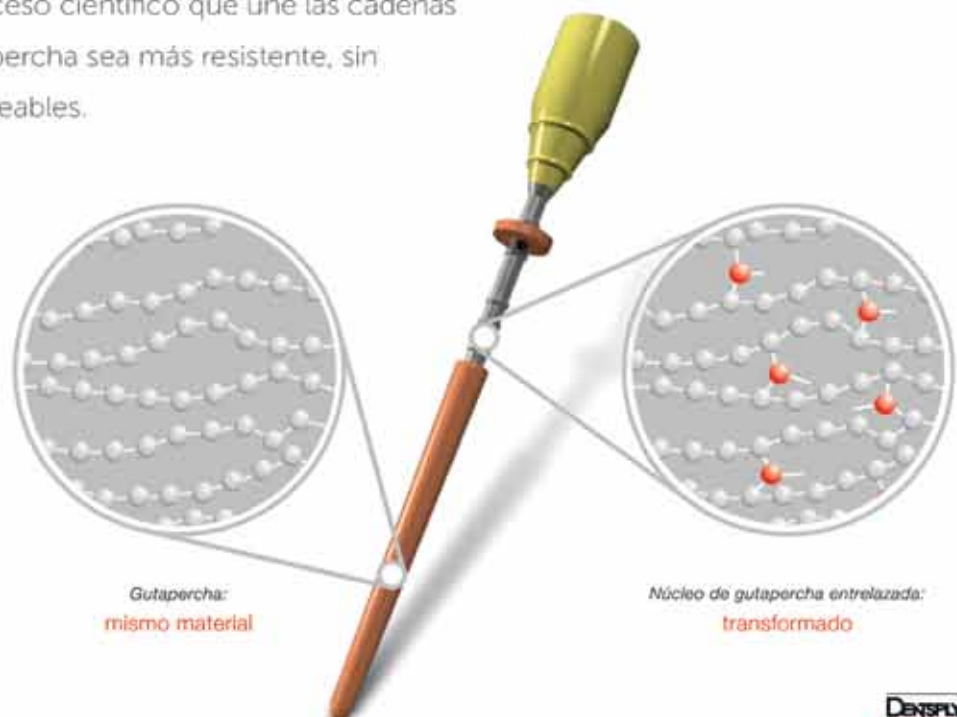
**PROTAPER•NEXT™** es el sucesor del sistema **PROTAPER® UNIVERSAL**, el cual ha supuesto el estándar de oro en Endodoncia por muchos años. Es una solución eficaz para los endodoncistas que buscan un sistema versátil y flexible con el que manejar la gran mayoría de tratamientos de conductos radiculares.

-  Reducción del riesgo de fractura de limas
-  Adecuada eficacia de corte
-  Ausencia de riesgo de contaminación cruzada



## gutta•core™ obturador con núcleo de gutapercha entrelazada

**gutta•core™** es el primer obturador con un núcleo de gutapercha entrelazada. El entrelazado es un conocido proceso científico que une las cadenas de polímero, haciendo que la gutapercha sea más resistente, sin modificar sus propiedades más deseables.



## Erradicación del *Enterococcus faecalis*: medicamentos e irrigantes

*Eradication of Enterococcus faecalis: medications and irrigants*



Mariel B. Galiana<sup>1</sup>



Carlos Lugo de Langhe<sup>2</sup>



Natalia B. Montiel<sup>3</sup>



Silvia M. Ortega<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Odontóloga. Especialista en Metodología de la Investigación. Especialista en Medicina Social y Comunitaria. Doctorando. Docente Cátedra Endodoncia y Cátedra Microbiología e Inmunología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste.

<sup>2</sup> Odontólogo. Doctorando. Becario de Perfeccionamiento de CyT. Docente Cátedra de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste.

<sup>3</sup> Odontóloga. Becario de Perfeccionamiento de C y T. Adscripta en Perfeccionamiento en la disciplina e iniciación en la investigación. Cátedra de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste.

<sup>4</sup> Odontóloga. Magister en Ciencias Médicas Tropicales. Doctorando. Profesora Adjunta Cátedra de Microbiología e Inmunología. Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste.

### RESUMEN

La irrigación es la fase dentro del tratamiento endodóntico que consiste en la introducción de una sustancia líquida al interior del conducto radicular como coadyuvante en la limpieza químico-mecánica, desinfección y conformación del mismo. La utilización de medicaciones intraconducto utilizadas entre sesiones, complementaría esta etapa. La deficiencia en los pasos operatorios nos pueden conducir a un fracaso endodóntico, siendo la causa principal de éste, la presencia de microorganismos. La especie bacteriana encontrada con mayor frecuencia en los fracasos endodónticos es el *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Por ello el objetivo del presente trabajo es reunir los últimos avances referidos a la antisepsia del sistema de conductos radiculares relacionados con la erradicación del *E. faecalis*. La búsqueda se realizó en las bases de datos Ebsco, Scielo, Bireme y Medline. Se seleccionaron 45 artículos de investigación correspondientes al período 2008-2013, fueron elegidos los que contenían irrigantes

y medicaciones intraconducto que tratan de eliminar o disminuir la presencia del *E. faecalis*. Se concluyó que el hipoclorito de sodio y la clorhexidina en sus múltiples concentraciones y asociaciones son los irrigantes que en mayor porcentaje determinaron eficacia antibacteriana contra el *E. faecalis*.

Palabras clave: *Enterococcus Faecalis*, fracaso endodóntico, hidróxido de calcio, irrigantes.

### ABSTRACT

*The irrigation is a phase of the endodontic treatment which involves introducing a liquid substance into the root canal as an adjuvant in the chemical-mechanical, disinfection and cleaning of the same shape. The use of intracanal medications used between sessions complement this stage. The deficiency in the operative steps we can lead to endodontic failure, being the main cause of this, the*

presence of microorganisms. The bacterial species most commonly found in endodontic failures is the *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Therefore the objective of this work is to bring the latest developments relating to antiseptics of the root canal system related to the eradication of *E. faecalis*. The search was conducted on the basis of Ebsco, SciELO, Medicine and Medline. 45 articles for the research period 2008-2013 were selected, were chosen containing irrigants

and intracanal medications to try to eliminate or reduce the presence of *E. faecalis*. It was concluded that sodium hypochlorite and chlorhexidine in its many mergers and partnerships are irrigating larger percentage determined in antibacterial efficacy against *E. faecalis*.

**Keywords:** *Enterococcus faecalis*, endodontic failure, calcium hydroxide irrigating.

## INTRODUCCIÓN

La Endodoncia es ciencia y arte, comprende la etiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones patológicas de la pulpa dentaria, en la región apical, periapical y por consiguiente del organismo<sup>1</sup>. Este sistema ofrece una anatomía compleja que debe ser preparada química y mecánicamente previo a la obturación. De las patologías endodónticas se distinguen procesos inflamatorios e infecciosos, asociados éstos últimos con el porcentaje de fracasos posoperatorios en endodoncia<sup>2</sup>. Una de las causas es la filtración de material infectado o necrótico por obturaciones incompletas y la presencia de microorganismos como causa principal<sup>3</sup>. En los dientes refractarios al retratamiento, con infecciones persistentes, se ha identificado al *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) como una de las especies bacterianas más prevalentes<sup>4</sup>. Es una bacteria, del género *Enterococcus*, especie *faecalis*, anaerobio facultativo, Gram positivo, inmóvil, halófilo y no esporulado; causa patologías diversas e infecciones oportunistas. Su hábitat natural es el intestino, y se lo ha podido aislar en la microbiota normal en la mucosa bucal, dorso de la lengua, infecciones pulpo-periapicales y bolsas periodontales<sup>5</sup>. Los estudios microbiológicos de conductos radiculares, señalan que en cultivos, la frecuencia de aparición del *E. faecalis* es del 10%, y a través de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativo (PCR) en tiempo real es del 80%; sin embargo, esta especie bacteriana no es frecuente en las lesiones cariosas ni en la cavidad bucal<sup>6,7</sup>. Se mantiene viable por su capacidad para invadir los túbulos dentinarios y adherirse al colágeno en presencia de suero humano, forma biofilms, algunos calcificados por un precipitado de cristales de apatita al interior del conducto, lo que puede contribuir a la persistencia y resistencia del microorganismo frente a medios ácidos y alcalinos e inclusive a la acción de antimicrobianos a diferencia de su presentación planctónica<sup>8,9,10,11,12,13</sup>. La nutrición la obtienen de derivados de la cavidad oral, tejido conectivo degenerado, carbohidratos fermentables de fuentes exógenas, proteínas y glicoproteínas de fuentes

endógenas<sup>13</sup>. Los factores de virulencia que facilitan su resistencia son sistemas de transporte de protones, de adhesión y colonización, de resistencia a las defensas del huésped (AS) y de inhibición a otras bacterias. Otros provocan daño tisular e inducen la inflamación<sup>14,15,16,17,18</sup>. La anatomía compleja del conducto radicular además de requerir una adecuada preparación mecánica hace indispensable la utilización de medicaciones intraconducto e irrigantes que lleguen a sitios inaccesibles para el instrumental endodóntico. La irrigación tiene un doble propósito, actuar sobre el componente orgánico removiendo los restos de tejido pulpar y microorganismos presentes y sobre el componente inorgánico para remover la capa de desecho dentinario. Se debe considerar por lo tanto el uso secuencial de solventes orgánicos e inorgánicos en el protocolo de irrigación, puesto que un irrigante no reúne todas las cualidades necesarias<sup>19</sup>. Debemos tener en cuenta que en algunos procedimientos el agregado de medicación intraconducto entre sesiones está indicada en casos de necrosis o gangrena, con la finalidad de lograr el efecto antibacteriano. El objetivo del presente trabajo es reunir los últimos avances referidos a la antiseptia del sistema de conductos radiculares relacionados con la erradicación del *E. faecalis*, para ofrecer al lector los adelantos que en este sentido está logrando la ciencia.

## DESARROLLO

La presencia del *E. faecalis* en los fracasos endodónticos ha despertado el interés en la comunidad científica por lo que surgieron numerosas investigaciones para erradicarlo con diferentes medicamentos e irrigantes. Fueron seleccionados 45 artículos de investigación correspondientes a los últimos 5 años (2008-2013). La búsqueda se realizó en las siguientes bases de datos: Ebsco, Scielo, Bireme, Medline. Se seleccionaron los artículos referidos a irrigantes y medicaciones intraconducto que intentan eliminar o disminuir la presencia

del *E. faecalis*. Las palabras clave que se utilizaron para la búsqueda bibliográfica fueron *E. faecalis*, fracaso endodóntico, hidróxido de calcio, irrigantes.

A través del análisis de la información, se destaca que los irrigantes y medicamentos utilizados con mayor frecuencia son hipoclorito de sodio, clorhexidina, hidróxido de calcio, EDTA, MTA (Agregado trióxido mineral), cetrímide, paramonoclorofenol alcanforado en diferentes concentraciones, asociaciones y tiempo, además de los extractos naturales como, *Aloe vera*, *Propóleo*, *Morindia citrifolia*, *aceites*, *hojas de Anacarda occidental*, *papaína*, y otros, solos o en combinación con los desinfectantes convencionales. Los autores consultados evaluaron sus resultados en cuanto a concentración, tiempo, y asociaciones entre irrigantes y medicaciones frente al *E. faecalis* y estos fueron muy diversos. Las investigaciones agregan al hidróxido de calcio en combinación con numerosos componentes y en forma frecuente con la clorhexidina. El hipoclorito de sodio y la clorhexidina fueron los irrigantes utilizados con mayor frecuencia.

### Hipoclorito de sodio

Arias y col. en el 2009 determinaron que el NaOCl es la solución más eficaz para la eliminación del *E. faecalis*, seguida por la CHX al 2%<sup>20</sup>. En coincidencia Retamozo y col. en el 2010 comprobaron el tiempo y la concentración del NaOCl al 5,25% frente al *E. faecalis* concluyendo que fue efectivo a los 40 minutos. Asimismo, citan a Baumgartner y col. quienes compararon la eficacia antimicrobiana del NaOCl al 1,3%, Biopure - MTAD, NaOCl al 5,25% - EDTA 15% para la irrigación del conducto radicular, siendo esta última asociación la que mejor rendimiento obtuvo<sup>21</sup>. Ozdemir y col. en el 2010 evaluaron in vitro los efectos del EDTA y NaOCl frente al crecimiento de *E. faecalis* en el conducto radicular comprobando la reducción de la biopelícula intraconducto en forma significativa<sup>22</sup>. En el 2010 da Silva Fidalgo T y col. utilizan ácido cítrico (6 y 10%), EDTA (17%) e NaOCl (0.5, 1.0, 2.5, y 5.25%) para comprobar la actividad antimicrobiana frente al *E. faecalis*, *Cándida albicans* y *Staphylococcus aureus* detectando un alto efecto inhibidor en la fase metabólica del *E. faecalis*, al incubarlo con EDTA al 17%; sin embargo la máxima acción antibacteriana estuvo dada por el NaOCl al 5,25%<sup>23</sup>. Por otra parte Sharifian M y col. en el 2011 evaluaron el efecto antimicrobiano de los extractos *Aurantifolia cítricos* (jugo de limón y extracto de corteza) frente a *E. faecalis* en los túbulos dentinarios con los siguientes irrigantes: Grupo-1 NaOCl al 5,25%, Grupo-2 EDTA al 17%, Grupo-3 NaOCl

+ EDTA, Grupo-4 jugo de limón Grupo-5 extracto de corteza etanólico de *Citrus aurantifolia*, Grupo-6 etanol al 96% concluyendo que la actividad antimicrobiana del jugo de limón era menor que la de NaOCl pero la eficacia del extracto de la corteza fue similar al hipoclorito de sodio<sup>24</sup>. Miliani y col. en el 2012 citan a Fedele y col. quienes coincidieron en la efectividad del NaOCl para erradicar al *E. faecalis*<sup>25</sup>. En coincidencia Gupta A y col. en el año 2012 evaluaron la eficacia antimicrobiana de *Ocimum sanctum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum* y 3% de NaOCl frente al *E. faecalis* y su biofilm. Si bien todos presentaron eficacia antimicrobiana, el NaOCl tuvo una eficacia superior entre todos los grupos<sup>26</sup>. Resultados similares obtuvieron Stojicic y col. en el 2012, cuando evaluaron un protocolo de irrigación del conducto radicular, frente a biopelículas y células planctónicas de *E. faecalis*. Se utilizaron QMiX (Clorhexidina - EDTA), CHX al 2%, MTA e NaOCl al 1% concluyendo que el QMiX e NaOCl fueron los más efectivos<sup>27</sup>. Murad y col. en el año 2012 evaluaron la eficacia antimicrobiana de NaOCl al 2,5% y al 5,25%, gel de CHX al 2%, CHX líquida y MTAD contra biofilms de *E. faecalis* sobre dentina humana. Establecieron que los irrigantes más eficaces fueron NaOCl al 2,5%, 5,25% y CHX en gel al 2% no existiendo diferencia significativa entre estos<sup>28</sup>. Ghonmode W y col. en el 2013 determinaron la eficacia antimicrobiana de irrigantes alternativos a base de hierbas como extractos de hojas de Neem, extractos de semilla de uva, 3% de NaOCl y etanol absoluto contra *E. faecalis*. Concluyeron que el extracto de hoja de Neem tiene un efecto antimicrobiano significativo contra *E. faecalis*<sup>29</sup>. En coincidencia Neelakantan P. y col. en el 2013 evaluaron la eficacia antimicrobiana de la *Curcumina*, NaOCl y la CHX contra *Enterococcus faecalis* y su biopelícula formada sobre el sustrato del diente in vitro. El NaOCl obtuvo la máxima actividad antibacteriana, seguido de la *Curcumina* y CHX<sup>30</sup>.

### Clorhexidina

En el 2008 Delle Vedove y col. compararon la acción del gel de Aloe vera natural, gel de CHX al 0,12%, gel de CHX al 2%, sobre *E. faecalis*. Obtuvieron los siguientes resultados en orden decreciente y de acuerdo a los halos de inhibición y efectividad de los irritantes: gel de CHX al 2%, gel de CHX al 0,12%, gel de Aloe vera y agua destilada<sup>31</sup>. Coincidieron con Higa R. y col. en el 2009 quienes sostuvieron que el NaOCl tiene menor efecto antimicrobiano que el digluconato de CHX al 2% contra el *E. faecalis*<sup>32</sup>. Así también en el 2010 Jhamb y col. determinaron que la CHX en combinación con preparaciones de Ca(OH)<sup>2</sup>

muestra una actividad antibacteriana similar a la de la CHX sola<sup>33</sup>. Semenoff T y col. en el 2010 analizaron la acción antimicrobiana del gluconato de CHX al 2 %, de NaOCl al 1% y PMC (paramonoclorofenol) con Furacin (nitrofurazona-polietilenglicol) contra cepas de *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis* y *P. aurescens*. Concluyeron que el gluconato de CHX al 2% dieron los mejores resultados, seguido por NaOCl al 1% mientras que PMC con Furacin no era eficaz contra los microorganismos<sup>34</sup>. Dornelle y col. evaluaron in vitro la eficacia antibacteriana de soluciones irrigantes contra el *E. faecalis*. Los irrigantes utilizados son: Grupo I, NaOCl al 2,5%; GII, NaOCl al 2,5% + 10% de ácido cítrico; GIII, 2,5% NaOCl + vinagre de sidra y manzana; GIV, vinagre de sidra y manzana; GV, 2% CHX; GVI, 1% ácido peracético; GVII, solución salina. Los grupos I, V, VI tenían recuentos bacterianos más bajos, pero ninguna de las soluciones erradicaba al *E. faecalis* del sistema de conductos radiculares<sup>35</sup>. Baca P y col. en el 2011, estudiaron el uso de soluciones de irrigación, NaOCl, CHX, cetrimide, EDTA, ácido maleico y sus combinaciones 2.5% de NaOCl seguido por 17 % EDTA o 7% de ácido maleico y CHX al 2%-Cetrimide al 0,2%. La máxima actividad residual y antimicrobiana se logró con cetrimide al 0,2% y en las combinaciones en las que se utilizó CHX al 2 % y cetrimide al 0,2%, en coincidencia con Monardes Cortes quien determinó la efectividad de la CHX frente al *E. faecalis* independientemente de su concentración<sup>36</sup>, 17. En el 2012 Tugba y col. probaron la acción antimicrobiana del hidróxido de calcio combinado con los siguientes vehículos: glicerina, gluconato de CHX al 2%, cetrimide al 2% y agua frente a *E. faecalis* y *C. albicans*. La combinación con CHX fue la más eficaz<sup>37</sup>. PPT y col. en el año 2012 evalúan la actividad antibacteriana de hidróxido de calcio con solución salina, con propilenglicol, pasta de OH (Ca) 2-Pulpedent- y CHX al 0,12%, OH(Ca)<sub>2</sub> mas CHX al 0,12% sobre el *E. faecalis*. Concluyeron que la solución de CHX al 0,12 % tiene el mayor efecto antibacteriano contra este microorganismo<sup>38</sup>. Sahebi S. y col. en el 2014 estudiaron el efecto antimicrobiano del NaOCl comparándolo con el efecto antimicrobiano del *Aloe vera* contra el *E. faecalis*. El efecto inhibitor del NaOCl contra el *E. faecalis* era mucho mayor que la de *Aloe vera* y la solución salina normal. Concluyeron que la solución de *Aloe vera* no se recomienda como un irrigador de endodoncia<sup>39</sup>.

#### Otras combinaciones de medicamentos e irrigantes

En el año 2012 Lima R y col., evaluaron al Ca(OH)<sub>2</sub> en diferentes presentaciones y asociaciones frente al *E. faecalis*. Se probaron los siguientes medicamentos y

períodos. Los dientes se dividieron de acuerdo a los medicamentos y periodos: G1 - Calen (7 días); G2 - Calen (14 días); G3 - Calen / paramonoclorofenol alcanforado (CMCP) (7 días); G4 - Calen / CMCP (14 días); G5 - Calen/0.4% de clorhexidina (CHX) (7 días); G6 - Calen/0.4% CHX (14 días); G7 - Calen / 1% CHX (7 días); G8 - Calen / 1% de CHX (14 días); G9 - preparación químico-mecánico sin medicación y G10 - ninguna preparación químico-mecánica y sin medicación. Los mejores resultados se dieron con la asociación de Calen-PMC y Calen-CHX<sup>40</sup>. Bhardwaj A y col. evaluaron la actividad antimicrobiana de *Morinda citrifolia*, *papaína* y *Aloe vera* (gel), 2 % de gel de CHX e Ca (OH)<sub>2</sub> frente a *E. faecalis*. El porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano fue de 100 % con gel de CHX, seguido por *M. citrifolia* en gel (86,02 %), el gel de *Aloe vera* (78,9 %), gel de *papaína* ( 67,3 %), e Ca(OH)<sub>2</sub> (64,3 %) <sup>41</sup>. Kumar H y col. en el año 2013 evaluaron in vitro la eficacia antimicrobiana de *Curcuma longa*, *Tachyspermum ammi*, clorhexidina (CHX) gel de gluconato de clorhexidina (hexigel - 1 %); en Ca(OH)<sub>2</sub> (10 %) como medicamentos intracanal contra *E. faecalis*. Concluyeron en que *Curcuma longa* (20 %) y el gel de gluconato de CHX (hexigel - CHX -1%) obtienen los mejores resultados<sup>42</sup>. Eswark y col. en el año 2013 compararon la eficacia del extracto de ajo con la CHX al 2% e Ca (OH)<sub>2</sub> en la desinfección de los túbulos dentinarios contaminados con *E. faecalis* mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR). Se demostró que la CHX al 2% mostró la máxima eficacia contra *E. faecalis*, seguido por el extracto de ajo y de Ca (OH)<sub>2</sub> <sup>43</sup>. Lucena J en el año 2013 determinan la viabilidad de *E. faecalis* en dentina infectada de piezas dentarias in vitro después de la exposición a CHX y octenidina. Se utilizaron, la pasta de hidróxido de calcio (CH), gel de CHX (5,0%), clorhexidina - conos de gutapercha (CHX -GP) y el gel de octenidina ( OCT- gel al 5,0%). Concluyeron que la CHX y el gel de octenidina fueron eficaces en la disminución del *E. faecalis*<sup>44</sup>. Hasheminia S y col. en el año 2013 compararon la actividad antibacteriana in vitro de irrigantes del conducto radicular comunes con una técnica combinada contra *E. faecalis*. Se irrigaron con 2 % de CHX, peróxido de hidrógeno al 3%, NaOCl al 5,25 %, CHX- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y solución salina estéril como control. Los resultados demostraron que la combinación CHX-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tenían eficacia antibacteriana similar al NaOCl en zonas superficiales y profundas en los túbulos dentinarios. Esta combinación puede ser considerada como un irrigante potencialmente útil para el tratamiento del conducto<sup>45</sup>. Shenoy A y col. en el año 2013 investigaron la acción antimicrobiana de dicloro isocianurato de sodio al

0,6% (NaDCC); CHX al 2%; e NaOCl al 2% y una combinación de 0,6 % de dicloro isocianurato de sodio y 0,2 % de CHX frente a *E. faecalis* y *Cándida albicans* obtenidos mediante el procedimiento de toma de muestras microbiológicas. Concluyeron que el dicloro isocianurato de sodio 0,6 % y CHX al 2% demostraron zonas más grandes de inhibición microbiana contra *E. faecalis*<sup>46</sup>. En el año 2013 Ballal y col. estudiaron el efecto antimicrobiano in vitro del extracto de la hoja de la planta de anacardo (*Anacardium occidentale*) y de gluconato de CHX al 2 % frente a *E. faecalis* y *Cándida albicans*. Comprobaron que el extracto de hoja de *Anacardium occidentale* demostró actividad antibacteriana contra *E. faecalis* equivalente a la CHX<sup>47</sup>. En el 2013 Castilho y col. utilizaron 25 extractos de plantas de bosques brasileños, de las cuáles 7 resultaron eficaces contra especies planctónicas del *E. faecalis* y biopelículas: *Ipomoea alba*, *Symphonia globulifera* y *Moronobea coccínea*, *Connarus ruber*, *Psidiumdensicomumy Stryphnodendron pulcherrimum* las que fueron sometidas a pruebas de antibiogramas utilizando CHX como control. Establecen que la actividad de los extractos activos de plantas es significativamente mayor que la observada con CHX en la eliminación del *E. faecalis* y las biopelículas<sup>48</sup>. En el 2012 Athiban PP y cols., evaluaron la actividad antibacteriana de un extracto concentrado de aloe en placas de agar, en la que se habían contaminado conos de gutapercha con *E. coli*, *E. faecalis*, *E. aureus*. Se concluye que el *Aloe vera* es eficaz como un descontaminante para los conos de gutapercha y que tiene un futuro prometedor como un medio para el almacenamiento de éstos<sup>49</sup>. Awawdeh L y col. en el 2009 investigaron la actividad antimicrobiana de la medicación intraconducto basada en propóleo contra *E. faecalis* mediante modelos de dentina infectada para comparar su eficacia antimicrobiana con la de la pasta de hidróxido de calcio cuando se utiliza como medicamento a corto plazo para 1 y 2 días. Los resultados muestran que el Propóleo fue significativamente más eficaz que el  $\text{Ca(OH)}_2$  contra *E. faecalis*<sup>50</sup>. En el 2011 Madhubala M. compararon la eficacia antimicrobiana del Hidróxido de Calcio, Mezcla Triantibiótica (TAM), y un extracto de Propóleos y etanol en conductos radiculares infectados por *E. faecalis*. El Propóleo fue más eficaz que el TAM en un plazo de 2 días, y ambos eran igualmente efectivos a los 7 días<sup>51</sup>. Mattigatti S en el 2012 compararon el efecto antimicrobiano de medicaciones e irrigantes intraconducto: NaOCl al 2%, CHX AL 2%,  $\text{Ca(OH)}_2$ , EDTA, MTAD y Propóleos y tres microorganismos: *S. aureus*, *E. faecalis* y *C. albicans*. Se concluyó en que el Propóleo es un irrigante intraconducto eficaz en la

erradicación de *E. faecalis* y *C. albicans* y podría ser utilizado como un medicamento intraconducto alternativo<sup>52</sup>. En coincidencia en el 2011 Arslan S y col. evaluaron el efecto antimicrobiano mediante la medición del CIM y CBM del propóleo, BioPure, MTAD, NaOCl al 5,25%, y el 2% de CHX contra el *E. faecalis* y *C. albicans* in vitro. La CHX y MTAD fueron más eficaces en concentraciones más bajas contra el *E. faecalis* que en *C. albicans*. Concluyeron en que el Propóleo presentaba actividad antimicrobiana contra *E. faecalis* y *C. albicans*<sup>53</sup>. Moncla BJ en el 2012 estudiaron al Propóleo, ampliamente utilizado por su actividad antimicrobiana, y se lo puso a prueba contra el *E. faecalis* de seres humanos y cerdos. Las cepas humanas de *E. faecium* y *E. faecalis* de los casos de tratamiento de endodoncia refractarios fueron susceptibles al Propóleo de origen brasileño<sup>54</sup>. En la Revisión Milliani del 2012 se cita a Torabinejad y col. quiénes probaron la capacidad de una mezcla de isómero de tetraciclina, un ácido y un detergente (MTAD) para eliminar al *E. faecalis* y comparar su eficacia con el NaOCl y el EDTA. En los resultados de este estudio, MTAD es la solución más eficaz en la erradicación de *E. faecalis*<sup>23</sup>. Balakrishnan R y col en el 2013 determinaron el efecto antimicrobiano y antifúngico de BioPure MTAD, Metapex y aztreonam contra *E. faecalis* y *C. albicans*. Concluyeron en que el BioPure MTAD era superior en sus cualidades antimicrobianas y antifúngicas en comparación con los otros irrigantes utilizados, seguido por Metapex y aztreonam<sup>55</sup>. Tong Z y cols. en el 2013, investigaron la actividad antibacteriana de MTA, MTADN (nisina en combinación con doxiciclina), y MTAN (nisina en lugar de doxiciclina) contra aislamientos de *E. faecalis* buscando la concentración inhibitoria y bactericida mínima. Concluyeron en que MTADN inhibe eficazmente el crecimiento del *E. faecalis* y su biofilm en el conducto radicular. Estos resultados son alentadores y sugieren que MTADN tiene un potencial considerable para el uso como irrigante efectivo<sup>56</sup>. En el 2009 Rodríguez Varo y col. evalúan preparados a base de polimixina, tirotricina y neomicina (Septomixine forte, Septodont, Saint Maur, Francia), otro a base de metronidazol (Grinazole, Septodont), un tercero a base de hidróxido cálcico (Calcipulpe, Septodont) y, por último, uno a base de paraclorofenol-yodo (Kri 1, Pharmachemic, Zurich, Suiza) sobre *E. faecalis* y *Actinomyces israelii*, in vitro. El más efectivo fue Septomixine seguido de Kri<sup>57</sup>. En el año 2009 da Fonseca L y col. toman como base la investigación de Ferreira y col. en la que probaron la actividad antimicrobiana del ácido ricinoleico (*Ricinus comunis*) con el  $\text{Ca(OH)}_2$  en comparación con el NaOCl. Se utilizaron dos pastas Pasta A:  $\text{Ca(OH)}_2$  y el

aceite de *Ricinus communis* y Pasta B:  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y propilenglicol, aunque según los investigadores quedaría pendiente la preparación de una fórmula ideal. Los resultados indican una mayor actividad antimicrobiana de la Pasta A<sup>58</sup>. En el 2010; Oliveira J y col investigaron la influencia del suero y tejido blando necrótico en la actividad antimicrobiana de medicamentos intraconductos, el menos afectado fue el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -paramonoclorofenol alcanforado y glicerina<sup>59</sup>. Machado M y col. en el 2011 verifican el efecto antimicrobiano de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y el yodoformo contra *E. faecalis* con diferentes tiempos de exposición y evaluación de las alteraciones morfológicas bacterianas. Se concluye que ambos medicamentos son efectivos, con un tiempo de exposición de 7 a 14 días<sup>60</sup>. Tabrizzadeh M y col en el 2012 determinaron la eficacia antimicrobiana de seis formulaciones de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (mezclado con solución salina, lidocaína 2%, CHX al 2%, CHX al 0,2%, yoduro de yodo de potasio (IKI) al 2 %, y glicerina) contra *E. faecalis* utilizando pruebas de difusión en agar. Todas las pastas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  probadas tenían una buena actividad antimicrobiana. Determinaron que la lidocaína al 2%, CHX al 2% y 2% IKI se sugieren para ser utilizadas para la preparación de pastas con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ <sup>61</sup>. En el 2013 Farac y col. estudiaron in vitro, el efecto antibacteriano de los medicamentos intraconducto en conductos contaminados con *E. faecalis*, lo dividieron al azar en 5 grupos en los que se utilizan: 1-propilenglicol ozonizado; 2-  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -paramonoclorofenol alcanforado; 3-propilenglicol ozonizado- $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , 4-propilenglicol- $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ; PC: grupo de control positivo (sin medicación), grupo control negativo (sin contaminación) El grupo 1 y 2 fueron los más efectivos contra *E. faecalis*<sup>62</sup>. En el año 2012 Estrela C y col. estudian el potencial antibacteriano de cloruro de cetilpiridinio (CPC) en los conductos radiculares infectados por *E. faecalis* el cual presentó potencial antibacteriano frente al *E. faecalis*<sup>63</sup>. En

el 2012 Liu V y col. estudian un péptido de caseína, grupos de proteínas de la leche bovina, en su forma glicosilada (glicopéptido kappa-caseína, KCGP) y su forma no glicosilada (péptido de kappa-caseína KCP) para la eficacia antibacteriana sobre cepas de *E. faecalis* y biofilm. El KCGP inhibió de forma eficaz la formación de biopelículas de *E. faecalis* y puede tener potencial para aumentar la eficacia de los agentes antisépticos tradicionales<sup>64</sup>. Sponchiado J y col. en el 2014 evaluaron la actividad antimicrobiana de una medicación intraconducto que contiene la fracción - acetato de etilo de Pothomorphe umbellata contra *E. faecalis*. La medicación intracanal que contiene P. umbellata era eficaz contra *E. faecalis* después de 7, 14, y 28 días de tratamiento sin diferencia estadísticamente significativa en comparación al hidróxido de calcio. Concluyen en que la fracción de acetato de etilo de P. umbellata era eficaz contra *E. faecalis*. La fitoterapia es una opción viable para el tratamiento de endodoncia<sup>65</sup>.

## CONCLUSIÓN

La complejidad de los factores de virulencia del *E. faecalis*, y el enigma de su permanencia en los conductos radiculares pese a los desinfectantes convencionales utilizados y a los nuevos irrigantes y medicaciones intraconducto hacen que el número de *E. faecalis* que encontramos en fracasos endodónticos permanezca elevado. El 100% de las publicaciones estudiadas en esta actualización corresponden a trabajos de investigación in vitro, por lo que podemos inferir que estamos en el inicio de una serie de investigaciones que deben evolucionar a otras etapas de experimentación en trabajos en vivo. Consideramos que el Hipoclorito de sodio y la clorhexidina son los irrigantes recomendados en la erradicación del *E. faecalis* por su comprobada efectividad en las investigaciones expuestas en este artículo.

## BIBLIOGRAFIA

- Leonardo M. Endodoncia. Tratamiento de Conductos Radiculares. Principios técnicos y biológicos. Edit. Artes Médicas Ltda. Vol 1 Año 2005. Pág 9
- Sjogren V., Figdor D, Persoon S, Sundqvist G, treatment of teeth with apical periodontitis. Int Endodon J 1997; 30: 297-306
- Pineda Mejia, Martha E. Retratamiento no quirúrgico de fracasos endodónticos. Parte I Odontología Sanmarquina UNMSM. Facultad de Odontología ISSN versión electrónica 1609-8617 2003; 6 (11): 35-4
- Trope M, Delano EO, Orstavik D. Endodontic 1. treatment of teeth with apical periodontitis: single versus multivisit treatment. J Endod 1999; 25: 345-50.
- Liébana Ureña J. Microbiología Oral. 2 ed. Madrid. Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana de España, S.A. U.; 2002, Pág. 342
- C. Canalda Sahli J, Pumarola, E. Berastegui J Actualización en Endodoncia 2009 Endodoncia 2010; 28 (No 3): 167-185
- Sedgley C, Nagel A, Dahlén G, Reit C, Molander A. Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction and Culture Analyses of Enterococcus faecalis in Root Canals. J Endod. 2006; 32: 173-7
- Love R. Enterococcus faecalis & a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001; 34: 399-405.
- McHugh C, Zhang P, Michalek S, Eleazer P. pH required to kill Enterococcus faecalis in vitro. J Endod. 2004; 30: 218-9
- Deng DM, Hoogenkamp MA, Exterkate RAM et al. Influence of Streptococcus mutans on Enterococcus faecalis biofilm formation. J Endod 2009; 35: 1249-52.
- Pardi G., Guilarte C. y cols. "Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico" V: 47 n° 1/2009

12. Zehnder M, Guggenheim B. The mysterious appearance of enterococcus filled root canals. *Int.Endod J* 2009; 42: 277-87.
13. Kishen G, Song K. The Role of Environmental Changes on Monospecies Biofilm Formation on Root Canal Wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod.*2005; 31: 867-72.
14. Distel J, Hatton J, GillepsieMJ.*Enterococcusfaecalis* colonization and biofilm formation in medicated root canals.*JEndod* 2001; 28: 689-93
15. Weckweert, Paulo Henrique et al. In Vitro Alkaline pH Resistance of *Enterococcus faecalis*. *Braz. Dent. J.* [online].2013, vol.24, n.5, pp. 474-476.ISSN 0103-6440.
16. Jett B, Huycke M, Gilmore M. Virulence of *Enterococcus*. *Clin Microbiol Rev.* 1994; 7: 462-478,
17. Monardes Cortes H. "Presencia de *Enterococcusfaecalis* en conductos radiculares infectados y susceptibilidad frente a irrigantes y medicamentos de uso endodóntico." Tesis Doctoral Universidad de Talca. Facultad de Ciencias de la Salud. Año 2011
18. Nallapareddy S, Qin X, Weinstock G, Hook M, Murray B. *Enterococcus faecalis*Adhesin, Ace, Mediates Attachment to Extracellular Matrix Proteins Collagen Type IV and Laminin as well Collagen Type I. *Infect Immun.* 2000; 68: 5218-5224
19. Sen BH, Wesselink PR, Turkun M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *IntEndod J* 1995; 28:141-8
20. Arias-Moliz MT,Ferrer-Luque CM,Espigares-García M,Baca PArias-Moliz M.*Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants.*J.Endod*2009 May;35(5):711-4. doi: 10.1016/j.joen.2009.01.018.
21. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio R, Torabinejad M. Minimum Contact Time and Concentration of Sodium Hypochlorite Required to Eliminate *Enterococcus faecalis*. *Journal OfEndodontics* [serial on the Internet]. (2010, Mar), [cited May 27, 2014]; 36(3): 520-523. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
22. Ozdemir H, Buzoglu H, Calt S, Stabholz A, Steinberg D. Effect of Ethylenediaminetetraacetic Acid and Sodium Hypochlorite Irrigation on *Enterococcus faecalis* Biofilm Colonization in Young and Old Human Root Canal Dentin: In Vitro Study. *Journal OfEndodontics* [serial on the Internet]. (2010, May), [cited May 27, 2014]; 36(5): 842-846. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
23. da Silva Fidalgo T, Barcelos R, Portela M, de AraújoSoares R, Gleiser R, e Silva-Filho F. Inhibitory activity of root canal irrigants against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Oral Research* [serial on the Internet]. (2010, Oct), [cited May 15, 2014]; 24(4): 406-412. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
24. Sharifian M, Shokouhinejad N, MonsefEsfahani H, Aligholi M, Amjadi M. Antimicrobial effect of Citrus aurantifolia extract on *Enterococcus faecalis* within the dentinal tubules in the presence of smear layer. (English). *Journal Of Dental Medicine* [serial on the Internet]. (2011, Sep), [cited May 15, 2014]; 24(2): 148-155. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
25. Miliani, Lobo y Morales. Irrigación puesta al día. *Acta bioclínica Volumen 2, N°4, Julio-Diciembre 2012.*Pag 85-116
26. Gupta A, Duhan J, Tewari S, Sangwan P, Yadav A, Saini H, et al. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of *Syzygiumaromaticum*, *Ocimum sanctum* and *Cinnamomumzeylanicum* plant extracts against *Enterococcus faecalis*: a preliminary study. *International Endodontic Journal* [serial on the Internet]. (2013, Aug), [cited May 15, 2014]; 46(8): 775-783. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
27. Stojicic S; Shen Y; Qian W; Johnson B; Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMIX. *IntEndod J*; 45(4): 363-71, 2012 Apr. Artículo en Inglés | MEDLINE | ID: 23134158
28. Murad C, Sassone L, Souza M, Fidel R, Fidel S, Junior R. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite, chlorhexidine and MTAD against *Enterococcus faecalis* biofilm on human dentin matrix in vitro. *RSBO: Revista Sul-Brasileira De Odontologia* [serial on the Internet]. (2012, Apr), [cited May 15, 2014]; 9(2): 143-150. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
29. Ghonmode W, Balsaraf O, Tambe V, Saujanya K, Patil A, Kakde D. Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extracts, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *E. faecalis* - An in vitro study. *Journal Of International Oral Health* [serial on the Internet]. (2013, Nov), [cited May 28, 2014]; 5(6): 61-66. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
30. Neelakantan P, Subbarao C, Sharma S, Subbarao C, Garcia-Godoy F, Gutmann J. Effectiveness of curcumin against *Enterococcus faecalis* biofilm. *ActaOdontologicaScandinavica* [serial on the Internet]. (2013, Nov), [cited May 15, 2014]; 71(6): 1453-1457. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
31. Delle VedoveSemenoff T; Rayder W. Ferreira S.,SemenoffA-,Eder S Biaso REfetividade in vitro de Aloe Vera in natura,gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidinaa 2% sobre*Enterococcusfaecalis*. *Rev. odontociênc.* 2008;23(3):283-286
32. Higa RA, Adorno CG, EbrahimAK,Suda H. Distance from file tip to the mahor apical foramen in relation to the numeric meter reading on the display of three different electronic apex locators. *IntEndod J* 2009; 42: 1065-70.
33. Jhamb S, Nikhil V, Singh V. An in vitro study of antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *Indian Journal Of Dental Research* [serial on the Internet]. (2010, Oct), [cited May 27, 2014]; 21(4): 512-514. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
34. Semenoff T, Semenoff-Segundo A, Henrique Borges A, Pedro F, Caporossi L, Rosa-Júnior A. Antimicrobial activity of 2% chlorhexidine gluconate, 1% sodium hypochlorite and paramonochlorophenol combined with furacin against *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis* and *P. aurescens*. *Revista Odonto Ciencia* [serial on the Internet]. (2010, Apr), [cited May 15, 2014]; 25(2): 174-177. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
35. Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru J, de Faria-Júnior N, Hungaro-Duarte M, Kuga M, Tanomaru-Filho M. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontology* [serial on the Internet]. (2011, Sep), [cited June 26, 2014]; 112(3): 396-400. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
36. Baca P, Junco P, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on *Enterococcus faecalis* biofilm in dentin. *Journal of endodontics*Marzo 2011.Vol.37..Iss 3Pag 363-6
37. Tugba Turk B, HakanSen B, Ozturk T y cols. In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide mixed with different vehicles against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg* 2009; 108: 297-301.s
38. P. P. T, Varma R, Anthony B. an in Evaluation Of The Antibacterial Effect Of Calcium Hydroxide And Chlorhexidine On Chlorhexidine On *Enterococcus Faecalis*. *Guident* [Serial On The Internet]. (2012, Mar), [Cited May 15, 2014]; 5(4): 55-59. Available From: Dentistry & Oral Sciences Source
39. Sahebi S.a, KhosravifarN.b, SedighShamsiM.a, MotamedifarM.c Comparison of the Antibacterial Effect of Sodium Hypochlorite and Aloe Vera Solutions as Root Canal Irrigants in Human Extracted Teeth Contaminated with *Enterococcus Faecalis*. *J DentShirazUnivMedSci.*, March 2014; 15(1): 39-43.
40. Lima R, Guerreiro JM-Tanomaru,Faria-Junior & M. Tanomaru-Filho, Eficacia de calcio hidroxidebased medicamentos intracanal contra *Enterococcusfaecalis*. Departamento de Odontologia Restauradora, Facultad de Odontologia de Araraquara, UNESP

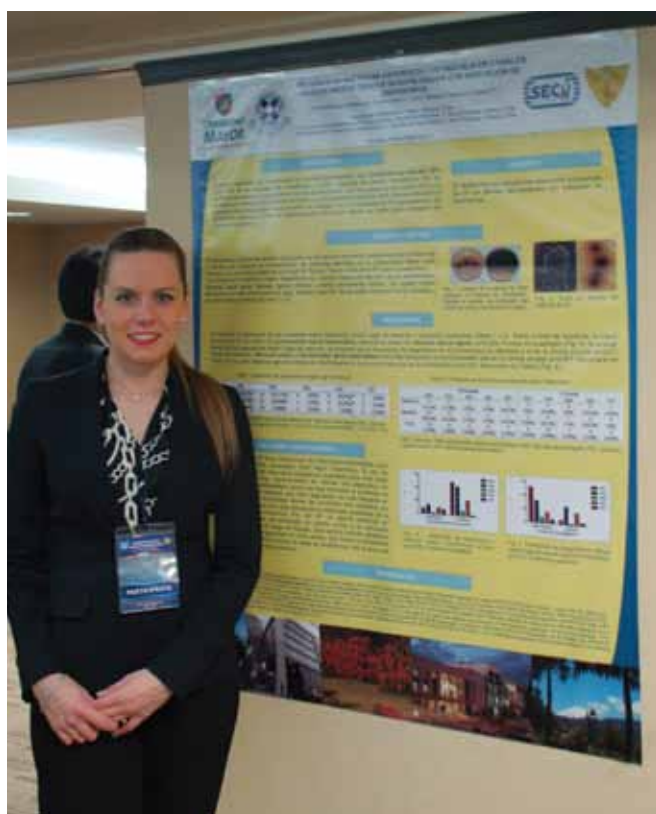
- Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brasil. *Internacional de Endodontia Journal*, 45, 311-316, 2012.25
41. Bhardwaj A., Ballal S., Velmurugan N Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of *Morindacitrifolia*, papain and aloe vera (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study *Journal of Conservative Dentistry* | Jul-Sep 2012 | Vol 15 | Issue 3,293-297
  42. Kumar H. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of *Curcuma longa*, *Tachyspermum ammi*, chlorhexidine gluconate, and calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis*. *Journal Of Conservative Dentistry* [serial on the Internet]. (2013, Mar), [cited May 15, 2014]; 16(2): 144-147. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
  43. Eswar K, Venkateshbabu N, Rajeswari K, Kandaswamy D. Dentinal tubule disinfection with 2% chlorhexidine, garlic extract, and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* by using real-time polymerase chain reaction: In vitro study. *Journal Of Conservative Dentistry* [serial on the Internet]. (2013, May), [cited May 15, 2014]; 16(3): 194-198. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
  44. Lucena J, Decker E, Walter C, Boeira L, Löst C, Weiger R. Antimicrobial effectiveness of intracanal medicaments on *Enterococcus faecalis*: chlorhexidine versus octenidine. *International Endodontic Journal* [serial on the Internet]. (2013, Jan), [cited May 15, 2014]; 46(1): 53-61. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
  45. Hasheminia S, Farhad A, Saatchi M, Rajabzadeh M. Synergistic antibacterial activity of Chlorhexidine and hydrogen peroxide against *Enterococcus faecalis*. *Journal Of Oral Science* [serial on the Internet]. (2013, Dec), [cited May 15, 2014]; 55(4): 275-280. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
  46. Shenoy A, Nayak S, Bolla N. an in-vitro comparison of the antimicrobial effects of sodium dichloroisocyanurate, chlorhexidine and sodium hypochlorite against *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans*. *Guident* [Serial on the internet]. (2013, July), [Cited May 15, 2014]; 6(8): 69-74. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
  47. Ballal N, Prakash P, Saraswathi M, Bhat K. Evaluation Of Antimicrobial Activity Of *Anacardium Occidentale* leaves against *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans*. *International Journal of Clinical Dentistry* [serial on the Internet]. (2013, Apr), [cited May 27, 2014]; 6(2): 113-120. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
  48. Castilho, Saraceni, Collantes Díaz New trends in dentistry: plant extracts against *Enterococcus faecalis*. *Indian J Dent Res* 20. The efficacy compared to chlorhexidine. *Braz Oral Res.* (São Paulo) 2013 Mar-APR; 27(2): 109-1552
  49. Athiban PP, Borthakur BJ, Ganesan S, Swathika B. Evaluation of antimicrobial efficacy of Aloe vera and its effectiveness in decontaminating guttapercha cones. *J Conserv Dent* 2012; 15: 246-8
  50. Awawdeh L, AL-Beitawi M, Hammad M. Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short-term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: A laboratory study. *Australian Endodontic Journal* [serial on the Internet]. (2009, Aug), [cited May 15, 2014]; 35(2): 52-58. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
  51. Madhubala M, Srinivasan N, Ahamed S. Comparative Evaluation of Propolis and Triantibiotic Mixture as an Intracanal Medicament against *Enterococcus faecalis*. *Journal Of Endodontics* [serial on the Internet]. (2011, Sep), [cited May 27, 2014]; 37(9): 1287-1289. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
  52. Mattigatti S, Jain D, Ratnakar P, Moturi S, Varma S, Rairam S. Antimicrobial Effect of Conventional Root Canal Medicaments vs Propolis against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Journal Of Contemporary Dental Practice* [serial on the Internet]. (2012, May), [cited May 15, 2014]; 13(3): 305-309. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
  53. Arslan S; Ozbilge H; Kaya EG; ErO. In vitro antimicrobial activity of propolis, BioPure MTAD, sodium hypochlorite, and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Saudi Med J*; 32(5): 479-83, 2011 May. Artículo en Inglés | MEDLINE | ID: 21556468
  54. Moncla BJ; Guevara PW; Wallace JA; Marcucci MC; Tampoco JE; Bretz WA. Z Naturforsch C. La actividad inhibidora de los propóleos tipificados contra especies de *Enterococcus*; 67 (5-6): 249-56, 2012 May-Jun. Artigo em Espanhol | MEDLINE = 06-2014 | ID: mdl-22888529
  55. Balakrishnan R, Dhole T, Dubey S, Boruah L, Langde S. Comparative antimicrobial and antifungal efficacy of BioPure MTAD, Metapex and aztreonam on *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Endodontic Practice Today* [serial on the Internet]. (2013, Mar), [cited May 15, 2014]; 7(1): 47-51. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
  56. Tong Z, Ling J, Lin Z, Li X, Mu Y. The Effect of MTADN on 10 *Enterococcus faecalis* Isolates and Biofilm: An In Vitro Study. *Journal Of Endodontics* [serial on the Internet]. (2013, May), [cited May 15, 2014]; 39(5): 674-678. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
  57. Rodriguez Varo L, Fumarola Sune J, Canalda Sahli C. Acción antimicrobiana in vitro de distintas medicaciones sobre *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israeli*. *Endod* 2009; 27: 7-12.
  58. da Fonseca L., García R. y cols. Antimicrobial activity of a calcium hydroxide and Ricinus communis oil paste against microorganisms commonly found in endodontic infections. *Rev. odontol. cienc.* 2009; 24(4): 406-409
  59. Oliveira Julio C. Machado de et al. Influence of serum and necrotic soft tissue on the antimicrobial effects of intracanal medicaments. *Braz. Dent. J.* [online]. 2010, vol. 21, n. 4, pp. 295-300. ISSN 0103-6440.
  60. Machado M, Martins G, Carreira K, Peixoto K, Nabeshima C, Gales A. Antimicrobial effect of two endodontic medicaments with different exposure times, and the morphologic alterations caused by *Enterococcus faecalis*. *Revista Odonto Ciencia* [serial on the Internet]. (2011, Oct), [cited May 15, 2014]; 26(4): 336-340. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
  61. Tabrizzadeh M, Zandi H, Kazemipoor M, Mokhtari F, Dehghani A. Evaluation of antibacterial effects of different calcium hydroxide compositions on planktonic *Enterococcus faecalis*. (English). *Journal Of Dental Medicine* [serial on the Internet]. (2012, Dec), [cited May 28, 2014]; 25(3): 182-188. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
  62. Farac, Roberta Vieira et al. Ex-vivo Effect of Intracanal Medications Based on Ozone and Calcium Hydroxide in Root Canals Contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Braz. Dent. J.* [online]. 2013, vol. 24, n. 2, pp. 103-106. ISSN 0103-6440. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201301992>.
  63. Estrela, Carlos; Sousa-Neto, Manoel Damião; Alves, Denise Ramos Silveira; Alencar, Ana Helena Gonçalves et al. A preliminary study of the antibacterial potential of cetylpyridinium chloride in root canals infected by *E. faecalis* *Braz Dent J*; 23(6): 645-653, 2012. Artículo en Inglés | LILACS | ID: 662421
  64. Liu V, Dashper S, Parashos P. Antibacterial efficacy of casein-derived peptides against *Enterococcus faecalis* *Australian Dental Journal* 2012; 57: 339-343 doi: 10.1111/j.1834-7819.2012.01711
  65. Sponchiado Jr E, Pereira J, Marques A, da Fonseca Roberti Garcia L, França S. In vitro assessment of antimicrobial activity of *Pothomorphe umbellata* extracts against *Enterococcus faecalis*. *Indian Journal Of Dental Research* [serial on the Internet]. (2014, Jan), [cited May 15, 2014]; 25(1): 64-68. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.

## 39 ° Jornada Nacional de la Sociedad Peruana de Endodoncia

25, 26 y 27 de Septiembre 2014

La Sociedad de Endodoncia de Chile (SECH) estuvo presente en la 39 ° Jornada Nacional de la Sociedad Peruana de Endodoncia, además de los socios que participaron en las conferencias dictadas durante esta jornada, también tuvimos en esta oportunidad la representación la Dra. Cynthia Rodríguez Niklitschek, quien participó en esta jornada con

la presentación de un poster con el tema *Presencia de bacterias Enterococcus Faecalis en canales radiculares de dientes desvitalizados. Estudio InVitro*. Felicitamos la iniciativa de la Dra. Rodríguez, quien obtuvo el auspicio de SECH.



### **Presencia de bacterias *Enterococcus Faecalis* en canales radiculares de dientes desvitalizados. Estudio InVitro.**

Cynthia Rodríguez-Niklitschek<sup>1,2</sup>, Gonzalo H. Oporto V.<sup>3,4</sup>, Carolina Soto<sup>1</sup>, Luis Salazar<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Odontología, Cátedra de Endodoncia, Universidad Mayor sede Temuco, Temuco, Chile.

<sup>2</sup> Programa Magíster en Odontología, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

<sup>3</sup> Departamento de Odontología Integral Adultos, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

<sup>4</sup> Centro de Biología Molecular y Farmacogenética, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

*Dirección de correspondencia: Cynthia Rodríguez Niklitschek, Cirujano Dentista, Especialista en Endodoncia, Docente Cátedra de Endodoncia, Universidad Mayor, sede Temuco. Av. Alemania 0281, Temuco Chile. Teléfono +56-45-2206149. Email: cynthia.rodriguez@mayor.cl*



**Dra. María Teresa Cañete**

Profesora Titular de Endodoncia I y II, Facultad de Odontología, Universidad Católica de la Plata.



**Odontóloga Miriam Salles**

Jefe de Trabajos Prácticos de Endodoncia II, Facultad de Odontología, Universidad Católica de la Plata.



**Dra. Zulma Stacchiotti**

Profesora Adjunta de Endodoncia II, Facultad de Odontología, Universidad Católica de la Plata.



**Odontóloga Ana Laura Resa**

Jefe de Trabajos Prácticos de Endodoncia II, Facultad de Odontología, Universidad Católica de la Plata.

## Premolares inferiores con mayor complejidad anatómica: casos clínicos

### INTRODUCCIÓN

Se necesita el conocimiento de la anatomía interna de las piezas dentarias, y sus distintas variables, para lograr uno de los objetivos de la terapia endodóntica, que es la correcta limpieza y conformación que permita una obturación tridimensional y estable en el tiempo.<sup>(1)</sup>

Es aceptado que una incompleta limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares traerá como consecuencia un fracaso endodóntico. Pueden quedar conductos sin tratar por la falta de su identificación durante el tratamiento. Se los llama conductos perdidos.

La presencia de conductos radiculares adicionales se ha reportado en investigaciones clínicas del piso de la cámara pulpar y en estudios radiográficos.

Por lo tanto, el conocimiento de la morfología de la cámara pulpar y del sistema de conductos radiculares es imprescindible para el ejercicio de la endodoncia.

La literatura describe grandes variaciones en la morfología del sistema de conductos radiculares de los premolares mandibulares.

En estudios hechos por Vertucci<sup>(2)(5)</sup>, Pineda y Kutler<sup>(6)</sup>, Gueider<sup>(7)</sup>, Zillich y Dowson<sup>(8)</sup>, Iyer<sup>(9)</sup> y Trope<sup>(10)</sup>, se analizan las diferentes variables de estas anatomías.

Vertucci<sup>(3)</sup> describió que los primeros premolares inferiores terminaban en un conducto en el ápice en el 74% de los dientes examinados, dos conductos en el 25,5% y tres conductos en el 0,5% restante.

Zillich y Dowson<sup>(8)</sup> analizaron con radiografías la anatomía de los premolares inferiores y hallaron que el primer premolar presentaban 1 conducto en un 80,7% y en un 18,9% tenían

2 conductos. En el segundo premolar un 88,4% tenía un solo conducto y un 11,2% dos conductos.

Trope y colaboradores<sup>(10)</sup> observaron 378 primeros premolares inferiores, por medio de radiografías. De ellos 22 presentaron dos raíces. Hallaron también diferencias estadísticas significativas en diferentes grupos raciales.

Iyer<sup>(9)</sup> en un estudio con 1000 primeros premolares inferiores reportó que 3,9% (39 especímenes) presentaron dos raíces. Así como Gueider<sup>(7)</sup> halló 6,4% con dos raíces de un total de 341 especímenes.

Xiangjie Li y colaboradores<sup>(4)</sup>, estudiaron premolares inferiores que correspondían a la clase V de Vertucci: piezas con un solo conducto que durante su trayecto se divide en dos y llegan por separado al ápice. Los autores hallaron que en el 69% de los casos estudiados el conducto lingual se localizaba en el tercio medio y en el resto comenzaba en el tercio apical.

SalarPoura y colaboradores<sup>(11)</sup> estudiaron la compleja anatomía de los premolares inferiores por medio de la tomografía de haz cónico. Los hallazgos fueron de un conducto en 71% en los primeros premolares y 76% en los segundos premolares; dos conductos con el 29% en los primeros y con el 22% en los segundos premolares respectivamente.

Greco-Machado y colaboradores<sup>(12)</sup> estudiaron la anatomía interna de los premolares con técnica de diafanización. Utilizaron la clasificación de Vertucci para los porcentajes.

La incidencia de un conducto (tipo I) fue de 68.18% para los primeros premolares inferiores, y un 31.8% presentó dos conductos (de tipo II a tipo V). En los segundos premolares inferiores, la incidencia de tipo I (un conducto) fue de 73.91%,

mientras que el 26.08% presentó dos conductos (de tipo IV a V).

En otra investigación realizada con técnica de diafanización como la anterior, el grupo de trabajo de Parekh<sup>(13)</sup> encontró los siguientes resultados: en los primeros premolares el 20% de los especímenes presentaba un conducto (tipo I) y tipo II y III el 5% cada uno, tipo IV 25%, tipo V 12,5% y tipo 6 el 2,5%. En el segundo premolar encontraron el 80% con

un conducto (tipo I), tipo IV 2,5%, tipo V 17,5%. Por lo que concluyeron que el primer premolar inferior muestra más alta variación (75%) comparado con el segundo premolar (37,5%).

De todos los estudios analizados se desprende que la intelectualización de la compleja anatomía, es fundamental para el éxito del tratamiento endodóntico.

### CASO CLÍNICO 1

Paciente masculino de 20 años de edad, que consultó por dolor intenso y continuo en la zona inferior izquierda.

En la inspección clínica se observó caries profunda en el primer premolar. Al examen radiográfico se vio la presencia de un conducto que a nivel del tercio medio se bifurcaba en dos, hasta llegar al ápice.

Luego de identificar la pieza que provocaba la consulta y de confirmar el diagnóstico de pulpitis se planeó el tratamiento endodóntico.



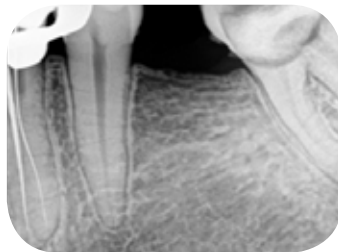
#### Protocolo quirúrgico

Se anestesió y aisló la pieza dentaria. Se realizó la eliminación del tejido cariado y se preparó el acceso a la cámara pulpar. El diseño del acceso cameral consistió en la rectificación de las paredes y se extendió la cavidad hacia vestibular y lingual con fresa EndoZ para poder acceder a los dos conductos radiculares.

La localización y exploración de los conductos se realizó con una lima tipo K n° 10 triangular de acero inoxidable para determinar las distintas particularidades que presentaba cada conducto en su recorrido.

La instrumentación del tercio coronario se realizó con Pre RaCe (FKG) 40/.10 y 35/.08, se irrigó con hipoclorito de sodio al 2,5% en forma abundante entre un instrumento y el siguiente de la serie.

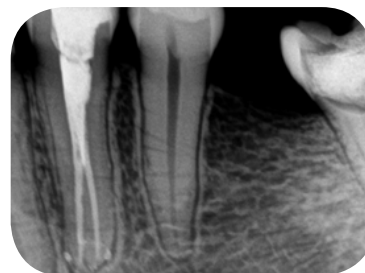
Una vez realizada la rectificación del tercio coronario se determina de la longitud de trabajo por medio del localizador apical, corroborada con imagen obtenida por el radiovisiógrafo.



Se conformó con IRace (FKG) con la siguiente secuencia: 15/06, 25/04 y 30/04. Todos a longitud de trabajo. Se irrigó con hipoclorito al 2,5% entre un instrumento y el siguiente de la serie.

Se tomó Radiografía de conometría y se obturó con técnica híbrida de Tagger. (1984)

Se utilizaron como conos maestros, dos conos 30/.04, condensación lateral en el tercio coronario y medio y plastificación con un gutta condenser 60. Se utilizó AH26 como sellador.



Rx postoperatoria inmediata



Control a los 3 meses

## CASO CLÍNICO 2

Paciente de 52 años que concurre a la consulta porque sentía que el premolar inferior tenía una leve movilidad y estaba muy oscuro. No presentaba dolor.

A la inspección clínica la pieza no presentaba caries y se confirmó la movilidad.

Al examen radiográfico se observaba una sombra radiolúcida periapical que abarcaba ambos ápices del premolar.

Se indicó el tratamiento endodóntico, por necrosis con infección.

### Protocolo quirúrgico

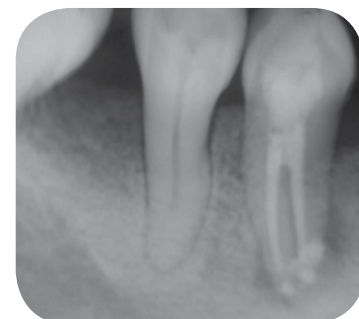
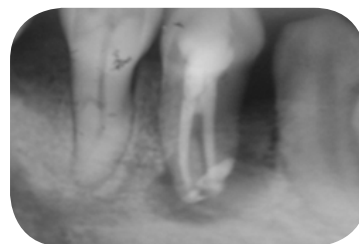
Se procedió a la anestesia y aislación de la pieza dentaria, se realizó la apertura, la exploración de los conductos con una lima tipo K N°10 y luego se rectificó el tercio coronario con la lima 08.25 del sistema Hyflex CM.

Se procedió a determinar la longitud de trabajo con un localizador apical y se corroboró por la toma radiográfica.

La instrumentación se completó con el mismo sistema con las limas 06/20,

06/25 y 06/30, bajo una irrigación de hipoclorito de NA al 2,5 %.

La obturación se realizó con técnica híbrida de Tagger (1984) con cemento Sealer 26 y conos maestros 30/.06 y condensación lateral.



Control 2 años

## CASO CLÍNICO 3

Paciente masculino, joven, que es derivado del curso de Ortodoncia al curso de Endodoncia de posgrado, para realizar el retratamiento endodóntico de la pieza 34.

Radiográficamente se observa un tratamiento endodóntico pobre y

deficiente con una zona radiolúcida apical. Anatómicamente se puede observar que a nivel apical la raíz se divide en tres conductos sin tratar.

Se decide realizar el retratamiento de la pieza.

### Protocolo quirúrgico

Se anestesió y aisló la pieza dentaria. Se eliminó la reconstrucción coronaria y se rectificó la apertura con fresa EndoZ.

Una vez logrado el acceso al conducto se desobturó utilizando limas Hedström #30 y 35.

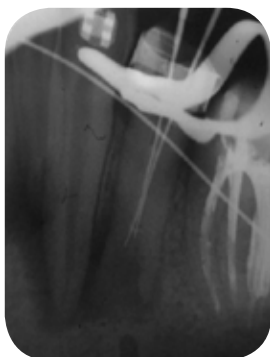
Se cateterizó con lima C+ #10 y 15. Se conformó con limas manuales tipo

K # 10, 15 y 20 y sistema Pre- RaCe y RaCe 20/02, 25/02 y 25/04.

Entre cada instrumento se irrigó con hipoclorito de sodio al 2,5%



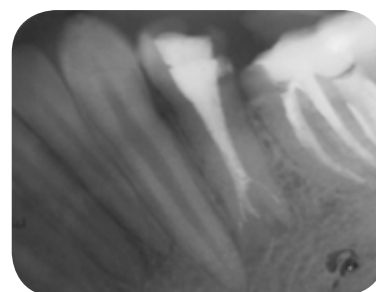
Conducto desobturado



Conductometría electrónica



Posoperatoria inmediata



Control al año

En la obturación se usaron conos con conicidad aumentada. (Conos 25/04). Se obturó con la técnica Híbrida de Tagger y como sellador se usó el AH26.

## BIBLIOGRAFIA

1. Sachdeva GS, Ballal S, Gopikrishna V, Kandaswamy D. Endodontic Management of a Mandibular Second premolar with four roots canals with the aid of spiral computed tomography: A Case Report. *J Endod.* 2008 Jan;34(1):104-7.
2. Vertucci FJ. Root canal morphology and its relationship to endodontics procedures. *Endod topics* 2005-;10:3-29.
3. Vertucci E, Seeling A, Gillis R. root canal morphology of the human maxillary second premolar. *Oral surgery* 1974;38:45
4. Xiangjie Li, Na Liu, Ning Liu, Lijun Ye, Xing Nie, Xia Zhou, Xiujie Wen, Rui Liu, Luchuan Liu, Manjing Deng. A Micro-Computed Tomography Study of the Location and Curvature of the Lingual Canal in the Mandibular First Premolar with Two Canals Originating from a Single Canal. *JOE.* 2012;38:309-3126-64.
5. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the permanent teeth. *Oral Surg oral med Oral pathol.* 1984;58: 589-99.
6. Pineda F Kuttler Y. Mesiodistal and buccolingual roentgenographic investigation of 7,275 root canals. *Oral Surg Oral med.Oral Pathol.* 1972;33: 101-10.
7. Geider P, Perrin C, Fontaine M. Endodontic anatomy of lower premolars-apropos of 669 cases. *J Odontol Conserv.* 1989 Winter;(10):11-5.
8. Zillich R, Dowson J. Root canal morphology of mandibular first and second premolars. *Oral surg oral med oral Pathol.* 1973;36:738-44.
9. Iyer Vh, Indira R, Ramachandran S, Srinivasan MR. Anatomical variations of mandibular premolars in Chennai population. *Indian J Dent. Res* 2006;17:7-10.
10. Trope M, Elfenbein L, Tronstad L. Mandibular premolars with more than one root canal in different race group. *JOE.* 1986; 12: 343-5.
11. Mohammad SalarPoura, Narges Farhad Mollashahia, Elnaz Mousavia, Elahe SalarPoura. Evaluation of the Effect of Tooth Type and Canal Configuration on Crown Size in Mandibular Premolars by Cone-Beam Computed Tomography. *Iranian Endodontic Journal* 2013;8(4):153-156
12. Y. Greco-Machado, J.A. García-Molina, V. Lozano-De Luaces, M.C. Manzaranes-Céspedes. Morfología de los conductos radiculares de premolares superiores e inferiores. *Endodoncia* 2009; 27 (Nº 1):13-18.
13. Parekh V, Shah N, Joshi H. Root Canal Morphology and Variations of Mandibular Premolars by Clearing Technique: An in vitro Study. *J Contemp Dent Pract* 2011;12(4):318-321.

## Efecto del peróxido de hidrógeno sobre las moléculas polianiónicas del esmalte dental



**Claudia Andrea Mañas Pérez de Tudela**

Cirujano Dentista de Universidad Finis Terrae.  
Cursando Postítulo de Implantología Oral y Oseointegración, Universidad del Desarrollo.

**Alejandro Oyarzún Droguett**

Cirujano Dentista de la Universidad de Chile.  
Magíster en Ciencias Biológicas mención Morfología, Universidad de Chile.  
Especialista en Morfología, Universidad de Chile. Profesor de Histología Oral, Universidad de Chile.

### RESUMEN

El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) es utilizado ampliamente en la clínica odontológica como un agente oxidante. Entre las aplicaciones más comunes de este compuesto podemos mencionar su uso como agente blanqueador en odontología estética.

Aunque los efectos estéticos del  $H_2O_2$  como agente blanqueador han sido ampliamente documentados, el efecto de este agente oxidante sobre la denaturación de proteínas de las matrices extracelulares dentarias no ha sido suficientemente estudiado. Con el objetivo de probar la hipótesis que el  $H_2O_2$  al 35%, utilizado como agente blanqueador, produce una pérdida de moléculas polianiónicas del esmalte dental, dientes sanos, extraídos por indicación quirúrgica u ortodóncica ( $n=20$ ), fueron tratados con  $H_2O_2$  al 35% a 45°C durante 60 minutos. Como control se utilizaron dientes que fueron sumergidos en suero fisiológico. Los especímenes fueron incluidos en metilmetacrilato. Se realizaron cortes mineralizados de 50-100  $\mu m$  de grosor, los que fueron procesados para la detección de moléculas polianiónicas mediante la tinción de Azul de Toluidina y detección inmunohistoquímica de condroitín-4 y -6 sulfato

mediante inmunofluorescencia indirecta. Las imágenes microscópicas fueron obtenidas mediante una cámara digital enfriada Qimaging, MicroPublisher 3.3 RTV y se guardaron como archivos JPEG con una resolución de 300 dpi.

La observación microscópica de los especímenes demostró una pérdida irregular de la metacromasia e inmunofluorescencia en el esmalte dental de los dientes experimentales respecto de los dientes control.

Nuestras observaciones sugieren que el tratamiento de piezas dentarias con  $H_2O_2$  al 35% remueve moléculas polianiónicas de las matrices extracelulares del esmalte. Sin embargo, un correlato preciso entre el tiempo de exposición y la cantidad de material orgánico eliminado no puede ser evaluado con precisión con esta metodología, dado que la intensidad de la reacción es directamente dependiente del grosor del corte. La implicancia de estos hallazgos permitiría reexaminar la prescripción de agentes oxidantes en odontología clínica.

Palabras clave: moléculas polianiónicas, peróxido de hidrógeno, matriz extracelular del esmalte.

### SUMMARY

*Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) is widely used in dental practice, as an oxidizing agent. Among the most common applications of this compound we mention its use as a bleaching agent in cosmetic dentistry.*

*Although the aesthetic effects of  $H_2O_2$  as a bleaching agent have been widely documented, the effect of this*

*oxidizing agent on the denaturation of proteins in tooth extracellular matrices has not been sufficiently studied. In order to test the hypothesis that  $H_2O_2$  35%, used as a bleaching agent caused a loss of polyanionic molecules of tooth enamel, healthy teeth extracted by surgical indication or orthodontic ( $n = 20$ ) were treated with  $H_2O_2$  at 35 % at*

45 C for 60 minutes. The control teeth were immersed in physiological saline solution. The specimens are included in methylmethacrylate. Mineralized samples in 50-100  $\mu\text{m}$  thick sections were taken, which were processed for detection of polyanionic molecules by toluidine blue staining and immunohistochemical detection of chondroitin-4 and -6 sulfate by indirect immunofluorescence. Microscopic images were obtained using a cooled QImaging digital camera, MicroPublisher RTV 3.3 and stored as JPEG files with a resolution of 300 dpi.

Microscopic examination of the specimens showed patchy loss of metachromasia and immunofluorescence in tooth

enamel of treated teeth as compared to the control teeth.

These observations suggest that treatment of teeth with 35%  $\text{H}_2\text{O}_2$  removes polyanionic molecules from enamel extracellular matrices. However, a precise correlation between the exposure time and the amount of organic material removed cannot be accurately assessed with this methodology, since the intensity of the reaction is directly dependent on the slice thickness. The implication of these findings could lead to reconsidering the prescription of oxidizing agents in clinical dentistry. Keywords: polyanionic molecules, hydrogen peroxide, extracellular matrix of the enamel.

## INTRODUCCIÓN

La composición del esmalte maduro fue establecida ya en la década de los 50 y en estudios recientes realizados por Simmer y Fischman<sup>(1)</sup>. Se demuestra que este tejido se encuentra constituido en un 95% por una fase mineral, siendo los cristales de hidroxiapatita su componente predominante  $[(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)]$ , un 4 % de agua y un 1% de fase orgánica.<sup>(1-3)</sup>

Los cristales de hidroxiapatita se distribuyen en el espacio para conformar las unidades básicas del esmalte: prismas o esmalte prismático y el esmalte interprismático. En el prisma, los cristales se disponen en haces para conformar estructuras de 4 a 5 mm de diámetro que se extienden desde la dentina hasta la superficie del esmalte. Los cristales de hidroxiapatita son dispuestos principalmente con su eje longitudinal paralelo al eje longitudinal del prisma<sup>(2)</sup>.

La interfase entre el esmalte prismático e interprismático, está delimitada por un pequeño espacio que contiene principalmente material orgánico, conocido como espacio interprismático. Histológicamente, el prisma se observa como una estructura cilíndrica incluida en el esmalte interprismático, la cual al ser cortada transversalmente, presenta una forma circular<sup>(2)</sup>.

La matriz extracelular orgánica, secretada por el ameloblasto durante la fase secretora de la amelogenénesis, contiene dos grandes grupos de proteínas, las amelogeninas y las no amelogeninas. Ambas tienen la función de regular y comandar el proceso de mineralización del esmalte<sup>(9)</sup>. En una fase posterior de maduración, a través de metaloproteinasas, las proteínas son eliminadas selectivamente casi en su totalidad. El remanente de la fase orgánica quedaría inmerso formando una trama en los espacios intercristalinos e

interprismáticos, constituyendo así, parte de la estructura del esmalte maduro<sup>(3)</sup>.

La estructura aminoacídica de la matriz orgánica del esmalte maduro está constituida por un 25% de glicina, 13.5% de ácido glutámico y 11% de prolina, entre otros<sup>(4,5)</sup>. Si bien estos datos fueron obtenidos hace varias décadas, actualmente, la información sobre la composición bioquímica del esmalte dental adulto sigue siendo escasa. Varios estudios realizados en esmalte de distintas especies, han determinado de forma no coincidente la presencia de proteoglicanos (PG) y glicosaminoglicanos (GAG) en la matriz extracelular (MEC) de este tejido<sup>(6,7,8)</sup>.

La presencia de glicosaminoglicanos (GAG) y proteoglicanos (PG) en la matriz del esmalte durante la amelogenénesis ha sido estudiada desde la década del 50<sup>(1,10)</sup>. Los PG, son macromoléculas de la matriz extracelular (MEC) y de la superficie celular formadas por una o más cadenas laterales de GAG unidas covalentemente a un núcleo proteico. Debido a la presencia de grupos carboxilos y sulfatos en las cadenas de GAG, los PG son altamente hidrofílicos y polianiónicos. Existen 5 tipos de GAG sulfatados que pueden asociarse a un núcleo proteico: heparina, heparán sulfato, condroitín sulfato (CS), dermatán sulfato (DS) y queratán sulfato (KS)<sup>(11)</sup>.

Considerando que los PG y GAG son moléculas altamente polianiónicas, ácidas e hidrofílicas<sup>(11)</sup> y se encuentran distribuidas en la MEC de los tejidos mineralizados<sup>(14,15,16)</sup>, participando en el intercambio iónico durante la biomineralización, es esperable detectar su participación durante el inicio y progresión de la mineralización del esmalte. Los PG y GAG se encuentran

distribuidos en la MEC de todos los tejidos mineralizados<sup>(11,14)</sup>, sería esperable por tanto que estas moléculas polianiónicas formen parte de la MEC del esmalte maduro y por tanto ser parte de los constituyentes funcionales del mismo.

Oyarzún comprobó, en conejos neozelandeses adultos, la presencia de PG y GAG en los espacios interprismáticos e intercristalinos del esmalte en proceso de maduración y su localización en esmalte completamente mineralizado, mediante técnicas inmunohistoquímicas<sup>(17)</sup>.

Existen estudios en los cuales se ha determinado que en el esmalte el contenido de PG es de un 0.2%<sup>(18)</sup>. Al ir avanzando el desarrollo del esmalte se pierden PG de la matriz orgánica disminuyendo a solo un 0.015% en esmalte maduro<sup>(13)</sup>. La distribución y la naturaleza exacta de estos PG en esmalte maduro todavía no es clara. Sin embargo, estos porcentajes de PG en esmalte no son en esmalte maduro, sino que de esmalte durante de la amelogenénesis.

El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) es utilizado ampliamente en la clínica odontológica como un agente oxidante. Entre las aplicaciones más comunes de este compuesto podemos mencionar su uso como agente blanqueador en odontología estética.

El blanqueamiento dental fue descrito por primera vez en 1864 por Truman, quien usó, en dientes no vitales, varios compuestos tales como el hipoclorito de sodio, perborato de sodio y peróxido de hidrógeno<sup>(19)</sup>.

En el siglo XXI el blanqueamiento dental es un procedimiento cosmético de alta demanda en odontología. Se define como un proceso decolorativo que puede ocurrir tanto en soluciones líquidas como en superficies sólidas. Los productos más usados para este propósito son en base a peróxido de hidrógeno y peróxido de carbamida en distintas concentraciones<sup>(21)</sup>.

Durante el transcurso de la vida de un individuo, el esmalte dental cambia de color debido a la incorporación de tinciones de distinta naturaleza, las tinciones de interés biológico, son compuestos orgánicos, que poseen cadenas conjugadas de enlaces simples o dobles, formando un sistema complejo, llamado cromóforo.

El blanqueamiento dental o decoloración del cromóforo puede ocurrir por destrucción de uno o más enlaces dobles de la cadena conjugada, por separación de la misma o por oxidación de los elementos químicos de dicha cadena, obteniendo moléculas más pequeñas, menos cromáticas y más difusas<sup>(21)</sup>.

El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) es un agente extremadamente oxidante de compuestos orgánicos e inorgánicos. Es incompatible con algunos materiales, incluyendo ácidos fuertes, acetona, alcohol, compuestos de amoníaco, bronce, cromo, hierro, cobre, oro, magnesio y manganeso<sup>(23)</sup>.

Su mecanismo de acción oxidativo es variado: depende fundamentalmente del sustrato, el ambiente en donde ocurre la reacción y del catalizador<sup>(21)</sup>.

El mecanismo de acción de los blanqueamientos dentales aún es motivo de controversia, debido a la gran variedad de posibilidades de oxido-reacción del peróxido de hidrógeno y peróxido de carbamida. Estos agentes oxidantes pueden formar distintas especies oxidativas dependiendo de las condiciones de la reacción, incluyendo temperatura, pH, luz y presencia de metales de transición<sup>(21)</sup>.

El contacto directo del peróxido de hidrógeno con la piel, mucosa oral, ocular, respiratoria y digestiva puede causar alteraciones de los tejidos, produciendo edema, inflamación y ulceración de las zonas expuestas<sup>(23)</sup>.

El contacto del peróxido de hidrógeno y peróxido de carbamida con la estructura dental puede causar irritación pulpar, sensibilidad dentinaria, reabsorción radicular externa, cambios en la estructura del esmalte, microfiliación en las restauraciones y disminución en los valores de resistencia a la tracción<sup>(20)</sup>.

En la literatura existen numerosos reportes sobre los agentes oxidantes que alteran la ultraestructura mineral y orgánica del esmalte dental. En 2007, Tezel H. y Özata F, concluyeron que el uso de  $H_2O_2$  al 35% activado con luz y el  $H_2O_2$  al 38% aplicado en las superficies del esmalte por 15 minutos 3 veces al día, durante 3 días causa desmineralización por pérdida de iones de calcio<sup>(22)</sup>.

En el 2007 Baiping F. y col, observaron que los blanqueamientos dentales causan alteraciones micro y nanomorfológicas en la superficie del esmalte, reducen significativamente el grosor del barro adamantino en esmalte desgastado, y además, postulan que la matriz orgánica del esmalte es fácilmente movilizada por el ataque de los radicales libres, causando micro cráteres<sup>(24)</sup>.

Richard S. y McGuerkin en 1992, observaron un aumento similar de la porosidad de las superficies tratadas con ácido ortofosfórico y con peróxido de hidrógeno al 35%. Los cambios producidos podrían atribuirse al bajo pH del peróxido de hidrógeno<sup>(25)</sup>.

Un estudio realizado por Hegedüs C. y col en 1999, observaron con microscopía de fuerza atómica que dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35%, presentan en la superficie del esmalte ranuras de mayor profundidad en comparación con especímenes control. Concluyó que el peróxido de hidrógeno es capaz de penetrar en el esmalte, y su capacidad oxidativa tiene un mayor efecto en la subsuperficie del esmalte donde se encuentra una mayor concentración de material orgánico, produciendo alteraciones sobre ésta<sup>(26)</sup>.

Aunque los efectos estéticos del  $H_2O_2$  como agente blanqueador han sido ampliamente documentados, el efecto de este agente oxidante sobre las moléculas polianiónicas del esmalte dental no han sido suficientemente estudiadas.

Este presente estudio *in vitro* se diseñó para comprobar la hipótesis de que el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) utilizado como agente blanqueador produce una pérdida de moléculas polianiónicas del esmalte dental.

## MATERIAL Y MÉTODO

### 1. Obtención de la muestra:

Se recolectaron 20 piezas dentarias permanentes sanas (terceros molares) extraídas por indicación quirúrgica u ortodóncica en la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad Finis Terrae.

Los especímenes fueron obtenidos con el consentimiento informado de cada uno de los pacientes.

### 2. Tratamiento con Peróxido de Hidrógeno:

Los especímenes fueron incubados en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 35% (Fluka Chemika) a 45°C, durante 60 minutos ( $n = 16$ ). Como control 4, especímenes fueron incubados en suero fisiológico. Transcurrido el tratamiento con el compuesto oxidante, los especímenes fueron profusamente lavados, con agua destilada durante 12 hrs a 4°C.

### 3. Procesamiento histológico de los especímenes:

Todos los especímenes fueron incluidos en metilmetacrilato. Se realizaron cortes de 1 mm de grosor utilizando una máquina cortadora de tejidos mineralizados ISOMET 1000 (Bühler) bajo refrigeración constante, que posteriormente fueron desgastados con discos metalúrgicos diamantados hasta obtener un espesor de 50-100  $\mu$ m.

### 4. Detección Histoquímica de Moléculas Polianiónicas:

Un corte de cada espécimen fue teñido con una solución acuosa de Azul de Toluidina al 0,5% durante 10 minutos. Los cortes fueron lavados profusamente con agua destilada, secados en estufa a 37° C por 12 horas y aclarados en xilol por 1 hora.

Los cortes fueron observados en un microscopio Zeiss Axiostar y fotografiados con una cámara digital Zeiss Axiocam ERcS5. Las imágenes fueron guardadas como archivos JPEG.

### 5. Detección Inmunohistoquímica de Condroitín Sulfato:

Cortes de cada uno de los especímenes experimentales y control fueron incubados con suero de cabra no inmune al 5% - albúmina de suero bovino (BSA) al 3% en Buffer Fostato Salino (PBS) durante 30 minutos para bloquear los sitios inespecíficos.

Todos los cortes fueron incubados con un anticuerpo monoclonal anti- condroitin sulfato (Clon CS-56 Sigma) 1: 200 diluido en PBS-BSA, durante 12 horas a 4°C.

Trascurrido este período, los cortes fueron lavado profusamente con PBS e incubados en un anticuerpo secundario especie específico marcado con FITC.

Los cortes fueron lavados en PBS y montados con Mounting Medium 508001 INOVA Diagnostics, Inc.

Los cortes se observaron en un microscopio de epifluorescencia convencional Zeiss Axiostar y se fotografiaron en una cámara digital enfriada Qimaging, MicroPublisher 3.3 RTV. Las imágenes se guardaron como archivos JPEG con una resolución de 300 dpi.

## RESULTADOS

### Detección Histoquímica de Moléculas Polianiónicas:

La tinción con Azul de Toluidina, en cortes de dientes control, permitió observar que la dentina circumpulpar, el límite amelodentinario y los husos adamantinos adquieren una ortocromasia de color azul oscuro. El esmalte del tercio externo, medio y parte del interno se observan metacromáticos con el colorante utilizado (color violeta) (Fig. 1a).

Con mayores aumentos, fue posible observar que la metacromasia del esmalte dental permite identificar claramente el patrón prismático e interprismático del tejido. Es importante destacar que después de la tinción histoquímica se observó claramente el patrón de bandas de Hunter-Schreger. (Fig. 1b-1c).

En los cortes de dientes tratados con peróxido de hidrógeno, la ortocromasia y la metacromasia conferida por la reacción histoquímica se distribuyen en forma similar a los cortes control. Sin embargo, hubo una disminución evidente

en la intensidad de la metacromasia después del tratamiento oxidante (Fig 2a). Con altos aumentos se observó con mayor definición, la pérdida de afinidad tintorial por el colorante empleado (Fig. 2b-2c).

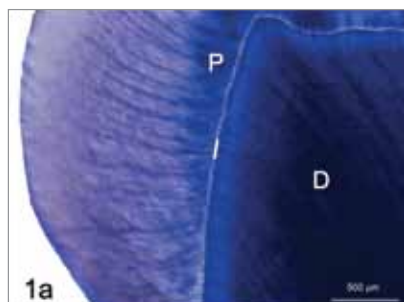


Figura 1a: Especimen control. Azul de toluidina. Nótese la ortocromasia (color azul) de la dentina (D) y tercio interno del esmalte dental (penachos del esmalte (P)). El tercio medio y externo del esmalte, se observa teñido metacromáticamente (color violeta), línea blanca: límite amelodentinario.



Figura 1b: Especimen control Azul de toluidina. Con un aumento intermedio, se observa una metacromasia evidente de estructura histológica del esmalte dental. HS: bandas de Hunter-Schreger



Figura 1c: Especimen control Azul de toluidina. En esta imagen con mayor aumento se observa el patrón prismático e interprismático del esmalte fuertemente teñido de color violeta con el colorante empleado.

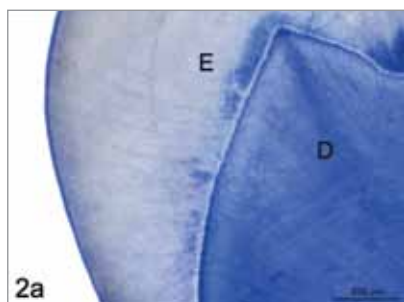


Figura 2a: Especimen experimental. Azul de Toluidina. Con bajos aumentos se aprecia una pérdida evidente de la metacromasia y de la ortocromasia en el esmalte observado. E: esmalte, D: dentina

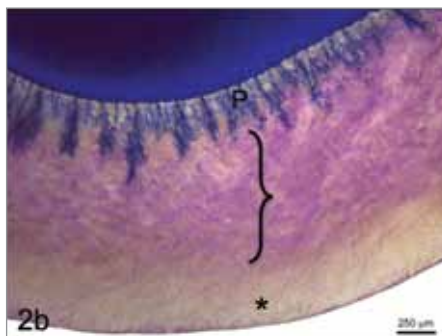


Figura 2b: Especimen experimental. Azul de Toluidina. En un corte transversal y con un aumento intermedio, se observa la ortocromasia de los penachos del esmalte (P) del tercio interno. Nótese a continuación de los husos adamantinos una extensa zona del tejido teñida metacromáticamente ( ) Externamente se observa que la superficie del tejido presenta una banda con pérdida evidente de la tinción histoquímica(\*)

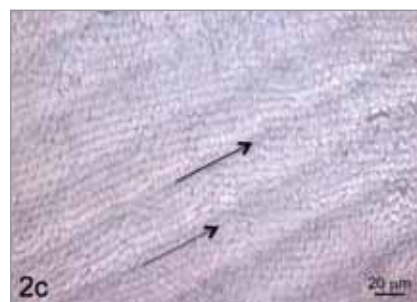


Figura 2c: Especimen experimental. Azul de Toluidina. Con mayor aumento se observa el patrón prismático de la zona externa con pérdida de la metacromasia. Flechas: líneas incrementales.

### Detección Inmunohistoquímica de Condroitín Sulfato:

En los cortes de los especímenes incubados con anticuerpo monoclonal anti-condroitín sulfato, se observa la reacción antígeno anticuerpo, de coloración verde la que, en el caso del esmalte, permite detectar la naturaleza prismática e interprismática (Fig. 3a-3b) y en el caso de la dentina, una fluorescencia positiva se observa sólo en el interior de los túbulos dentinarios (Fig 3c).

Con mayor aumento, la inmunofluorescencia muestra nítidamente el esmalte dental, lo cual permite diferenciar claramente el patrón prismático e interprismático del tejido y el límite amelodentinario (Fig 3b).

El diente control negativo en el que se omitió el anticuerpo primario, no se observa inmunoreacción específica, sólo se ve una leve fluorescencia, dada por la fluorescencia natural del tejido calcificado (Fig 3d).

En los cortes de dientes tratados con peróxido de hidrógeno, se observó una pérdida evidente de la inmunofluorescencia en la superficie de todos los cortes cuya profundidad no fue homogénea. (Fig 4a-4b). Con mayores aumentos se observa una pérdida de la inmunofluorescencia principalmente en el esmalte prismático del tejido (Fig. 4c-4d).

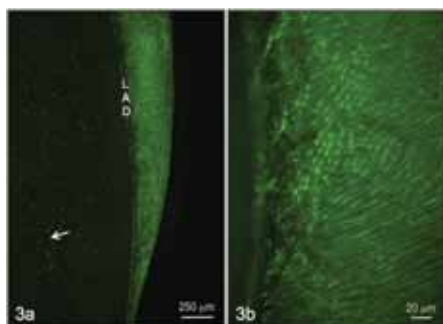


Figura 3a: Espécimen control. Inmunofluorescencia indirecta. Con bajo aumento se observa una inmunoreacción positiva de color verde en el espesor del esmalte dental, en el límite amelodentinario (LAD) y túbulos dentinarios (flecha).

Figura 3b: Espécimen control. Inmunofluorescencia indirecta. Con mayor aumento se observa una inmunofluorescencia positiva en el espesor del tejido. Nótese el patrón prismático en distintos planos de corte.

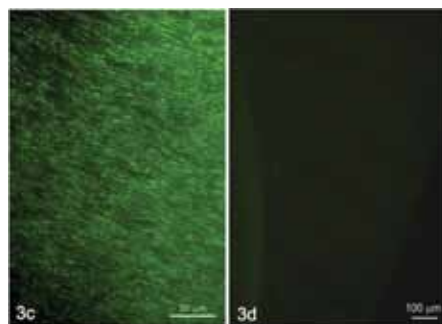


Figura 3c: Espécimen control positivo. Inmunofluorescencia indirecta. En la dentina circumpulpar se detectan los túbulos dentinarios marcados por la reacción inmunohistoquímica.

Figura 3d: Espécimen control negativo. Inmunofluorescencia indirecta. La omisión del anticuerpo primario permite detectar una ausencia total de reacción inmune específica. Sólo se detecta una leve fluorescencia basal conferida por la autofluorescencia natural del tejido.

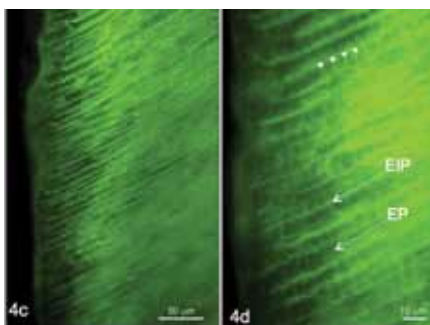


Figura 4c: Espécimen experimental. Inmunofluorescencia indirecta. Con mayor aumento se observa que la pérdida de la inmunofluorescencia sigue una vía de penetración intraprismática.

Figura 4d: Espécimen experimental. Inmunofluorescencia indirecta. Con mayor aumento se observa con mayor definición la pérdida de la inmunofluorescencia intraprismática. Nótese que el esmalte interprismático en las zonas afectadas por el agente oxidante, presenta una inmunoreacción intensa. Las estriaciones transversales de los prismas afectados por el peróxido de hidrógeno son claramente delimitados (\*). EIP: esmalte interprismático. EP: esmalte prismático.

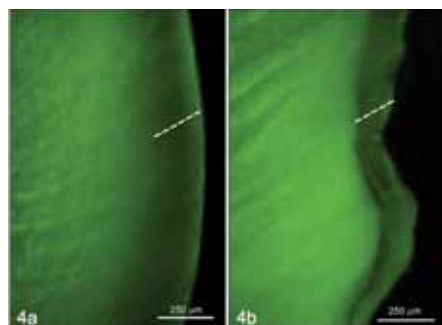


Figura 4a: Espécimen experimental. Inmunofluorescencia indirecta. Con bajo aumento es posible detectar que la zona superficial del esmalte vestibular expuesto al agente oxidante presenta una disminución de la inmunoreactividad manifestada por pérdida de la intensidad del color verde fluorescente (línea punteada).

Figura 4b: Espécimen experimental. Inmunofluorescencia indirecta. Con bajo aumento es posible detectar que la zona superficial del esmalte oclusal expuesto al agente oxidante presenta una disminución de la inmunoreactividad manifestada por pérdida de la intensidad del color verde fluorescente (línea punteada).

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se estudió el efecto del peróxido de hidrógeno sobre la distribución morfológica de moléculas polianiónicas, constituidas por glicosaminoglicanos de condroitín 4 y 6 sulfato, en el esmalte dental humano mineralizado.

Una revisión acuciosa de la literatura odontológica, posiciona este trabajo como el primer reporte que intenta estudiar el efecto de este agente oxidante sobre las macromoléculas extracelulares de la matriz orgánica del esmalte dental humano mineralizado.

Los PG son un grupo de macromoléculas de la matriz extracelular y de la superficie celular, compuestas por una o más cadenas laterales de glicosaminoglicanos (GAG) unidas

covalentemente a un núcleo proteico. Debido a la presencia de grupos carboxilo y sulfato en las cadenas de GAG, los PG son altamente hidrofílicos y polianiónicos<sup>(11)</sup>.

Los GAG y PG han sido profusamente estudiados mediante técnicas histoquímicas. El azul de toluidina es un colorante policromático perteneciente al grupo de las tiazinas, el que produce distintas coloraciones dependiendo de la naturaleza y de las uniones químicas de los componentes del tejido. Este colorante es cargado positivamente a un pH de alrededor de 4,4 uniéndose a polisacáridos carboxilados<sup>(27)</sup>.

La metacromasia roja y púrpura producida por el azul de toluidina indica la presencia de glicosaminoglicanos o complejos proteína-glicosaminoglicanos (proteoglicanos).

Este colorante catiónico ha sido muy utilizado en ciencias biológicas y biomédicas para la identificación, tanto morfológica como bioquímica, de la presencia de moléculas polianiónicas en el espesor de los tejidos<sup>(28)</sup>.

Las observaciones realizadas mediante la histoquímica de moléculas polianiónicas mediante el azul de toluidina en el presente trabajo de investigación, coincide con estudios histoquímicos preliminares realizados principalmente en matriz de cartílago. Es así como se observó claramente el esmalte dental humano teñido por una metacromasia de color púrpura o violeta, distribuida principalmente en el esmalte prismático e interprismático de los especímenes<sup>(27)</sup>.

A pesar de estas observaciones, la baja especificidad de la técnica empleada no permite identificar la presencia de glicosaminoglicanos específicos en la matriz orgánica del esmalte dental.

En 1982, Nakata y col. realizando estudios histoquímicos con colorantes catiónicos para microscopía electrónica, lograron identificar la presencia de mucosustancias en el espesor del esmalte humano de terceros molares humanos.

En un intento por identificar la naturaleza de esas mucosustancias, estos investigadores realizaron además, digestiones enzimáticas del tejido con condroitinasa AC, hialuronidasa y neuraminidasa. A partir de estas metodologías, se concluyó que el principal componente de la matriz orgánica del esmalte dental era condroitín -4 o condroitín-6 sulfato, localizado en la vaina del prisma y los espacios intercristalinos<sup>(12)</sup>.

A pesar de lo anteriormente expuesto, la evidencia de la presencia de glicosaminoglicanos y proteoglicanos en la matriz orgánica del esmalte dental humano fue indirecta. En nuestro estudio se realizó la detección inmunohistoquímica de condroitín 4 y 6 sulfato, utilizando un anticuerpo monoclonal altamente sensible y específico<sup>(29)</sup>.

Estas observaciones constituyen el primer reporte en la literatura odontológica de la detección inmunohistoquímica de moléculas polianiónicas en cortes mineralizados de esmalte dental humano.

Aunque en numerosos estudios se han investigado las alteraciones producidas en el tejido dentario por los agentes blanqueadores, aún existe controversia acerca de su modo de acción y su efecto sobre la estructura y comportamiento clínico del esmalte dental.

Los agentes oxidantes más utilizados en odontología, para lograr el efecto blanqueador, son peróxido de hidrógeno

y peróxido de carbamida en distintas concentraciones y forma de presentación<sup>(19)</sup>. El uso de estos agentes oxidantes, ha demostrado utilidad para mejorar clínicamente las condiciones estéticas de piezas dentarias con pigmentaciones endógenas y exógenas, sin embargo, los fundamentos bioquímicos del blanqueamiento de estas pigmentaciones no se han dilucidado con precisión, así como tampoco el efecto de estas moléculas oxidantes sobre la organización estructural y molecular de las piezas dentarias.

Estudios realizados sobre el efecto del peróxido de hidrógeno, respecto a los cambios morfológicos producidos sobre los tejidos dentarios son contradictorios, sin embargo por lo general concuerdan en que el peróxido de hidrógeno puede alterar el contenido mineral de la pieza dentaria. El uso de peróxido de hidrógeno para blanqueamiento, produce una liberación de iones de calcio y fósforo, los cuales aumentan a medida que aumenta la concentración del peróxido<sup>(30)</sup>.

Nuestra investigación se diseñó para constatar que el peróxido de hidrógeno al 35% produce una pérdida de moléculas polianiónicas de la matriz orgánica del esmalte dental, lo cual se evidenció como una disminución de la metacromasia e inmunofluorescencia de la superficie en las áreas afectadas por el agente oxidante.

Una investigación realizada por T. Jiang en 2007, demostró que la dentina al ser expuesta al peróxido de hidrógeno al 30%, sufre una pérdida de material orgánico y mineral, debido al mecanismo de oxidación de proteínas (Rotstein *et al.*, 1992, 1996; Kawamoto and Tsujimoto, 2004; Chng *et al.*, 2005) este resultado es más evidente, debido a que la dentina posee un contenido mineral menor que el esmalte dental<sup>(31)</sup>.

Otro estudio, realizado por Dahl y Pallesen en 2003, demostró que los dientes que fueron sometidos a blanqueamiento con peróxido de hidrógeno al 35% tenían una pérdida de esmalte interprismático y cambio de la composición inorgánica del esmalte, en comparación con los especímenes que fueron expuestos a concentraciones de 10% y 16% los cuales no sufrieron alteración<sup>(19)</sup>.

La metodología utilizada en el presente trabajo de investigación permitió comprobar la hipótesis planteada inicialmente, ya que fue posible observar en todos los cortes la pérdida de moléculas polianiónicas detectadas por histoquímica e inmunofluorescencia indirecta. Las implicancias clínicas de la pérdida de la barrera electronegativa conferida por los GAG de condroitín 4-6 sulfato de los espacios intercristalinos del esmalte es

desconocida. Sin embargo, podemos inferir que esta pérdida de electronegatividad superficial podría modificar las interacciones de materiales adhesivos/superficie dentaria en odontología adhesiva y las interacciones proteínas/película adquiridas en condiciones normales o durante el inicio y progresión de la lesión de mancha blanca.

## CONCLUSIÓN

El tratamiento de piezas dentarias con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 35% produce una pérdida de moléculas polianiónicas (glicosaminoglicanos de condroitín 4 y 6 sulfato) de la matriz extracelular orgánica del esmalte dental.

## BIBLIOGRAFÍA

- Belcourt A, Gillmeth S. EDTA Soluble Protein of Human Mature Normal Enamel. *Calcif. Tissue Int.* 1979, 28:227-231.
- Oyarzún, A. Histología de la Caries del Esmalte. Cariología clínica: Bases preventivas y restauradoras. *Editores Moncada G, Urzúa I.* 1° edición, año 2008. Capítulo 5 pág. 107.
- Wang L, Tang R, Bonstein T, Orme CA, Bush PJ, Nancollas GH. A New Model for Nanoscale Enamel Dissolution. *J Physical Chem*, 2005, Vol 109, Pág. 999-1005.
- Hess W.C, Lee C.Y and. Neidig B.A The Amino Acid Composition of Enamel Protein. *J Dent Res* 1953, 32: 585-587.
- Sasagawa I. Fine structure of the cap enameloid and of the dental epithelial cells during enameloid mineralization and early maturation stages in the tilapia, a teleost. *J Anat* 1997, 190 (Pt 4):589-600.
- Wallwork M, Kirkham J, Zhang J, Smith A, Brookes S, Roger C. Shore, Simon R. Wood, Okhee Ryu, Colin Robinson. Binding of Matrix Proteins to Developing Enamel Crystals: An Atomic Force Microscopy Study.. *Langmuir* 2001, 17: 2508-2513.
- Battistone GC, Burnett GW. Studies of the composition of teeth IV. The amino acid composition of human enamel Protein. *J Dent Res* 1956, 35:255-272.
- Suga S., Murayama Y., Masashi T. A study of the mineralization process in the developing enamel of guinea pigs. *Archs Oral Biol* 1970, 15:597-612.
- Eastoe JE. Enamel protein chemistry—past, present and future. *J Dent Res* 1979, 58:753-764.
- Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1995, 6:84-108.
- Rouslathi E. Structure and biology of proteoglycans . *Annu Rev Cell Biol* 1998, 4: 229 – 255.
- Nakata T., Yamamoto K., Matsuo S., Nishimoto T., Kitano E., Akai M., Nature and distribution of mucosubstances in human mature enamel identified by enzyme electron microscopy . *Archs Oral Biol* 1982, 27 :431-433.
- Clark RD, Smith JG Jr, Davidson EA. Hexosamine and acid glycosaminoglycans in human teeth. *Biochim Biophys Acta.* 1965 1;101(3):267-72.
- Takagi M., Maeno M., Kamgami A., Takahashi Y., Otsuka K. Biochemical and immunocytochemical characterization of mineral binding proteoglycans in rat bone. *J Histochem Cytochem* 1991: 39:41-50.
- Maeno M., Taguchi M., Kosuge K., Otsuka K., Takagi M., Nature and distribution of mineral-binding, keratan sulfate-containing glycoconjugated in rat and rabbit bone. *J histochem Cytochem* 1992; 40 :1779-1788.
- Fernandez M., Araya M., Arias J. Eggshells are shaped by a precise spation-temporal arrangement of sequentially deposits macromolecules. *Matrix Biol* 1997: 16:13-20.
- Oyarzún A. Immunohistochemical localization of glycosaminoglycans and proteoglycans involved in enamel formation. *Eur cell & Materials* 2007, 14:2; 117.
- Seyer J. and Glimcher M. J. The content and nature of the carbohydrate components of the organic matrix of embryonic bovine enamel. *Biochim Biophys Acta* 1969: 184,509-522.
- Dahl J, Pallesen U. Tooth bleaching- A critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14(4):292-304.
- Nour El-din AK, Miller B H, Griggs J A, Wakefield C. Immediate bonding to bleached enamel. *Oper Dent* 2006; 31(1):106-114.
- Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent* 2006; 34:412-419.
- Tezel H, Özata F. Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface. *Quintessence* 2007 April: 38 (4): 339-347.
- Walsh L. Safety issues relating to the use of Hydrogen peroxide in dentistry. *J Aust Den* 2000: 45(4): 257-269.
- Baiping Fu, Wiebke Hot-Hanning, Matthias Hanning. Effects of dental Bleaching on micro- and nano-morphological alterations of the enamel surface. *Am J Dent* 2007 Feb; 20 (1) : 35-40.
- Richard S, McGuekin DDs. Alterations in human enamel surface morphology following vital bleaching. *J Pros* 1992; 68(5): 754-760.
- Hegedüs C, Bistey T, Flóra-Nagy, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study en the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent* 1999; 27:509-515.
- Terry D.E., Chopra R.K. Differential use of alcian blue and toluidine blue dyes for the quantification and isolation of anionic glycoconjugates from cell cultures: application to proteoglycans and a high-molecular-weight glycoprotein synthesized by articular chondrocytes. *Anal Biochem* 2000, 285:211-219.
- Shepard N., Mitchell N., Simultaneous localization of proteoglycan by Light and electron microscopy using toluidine blue o a study of piphyseal cartilage. *J Histochem Cytochem* .1976 24(5): 621-629.
- Avnur Z., Geiger B. Immunocytochemical localization of native condroitin sulfate in tissues and cultured cells using specific monoclonal antibody. *Cell* 1984, 38: 811-822.
- Al-Salehi SK., Wood D.j., The effect of 24 h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. *J Dent* 2007, 35: 845-850.
- Jiang T, Ma X. Effects of hydrogen peroxide on human dentin structure. *J Dent Res* 2007; 86(11): 1040-1045.

## Células Madre de la Pulpa Dental, una mirada desde sus aplicaciones y sus proyecciones terapéuticas



**Ilse Müller S.<sup>1</sup>**

Bioquímico, PhD

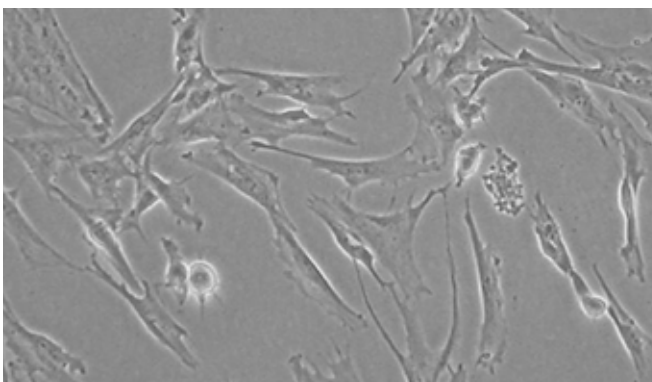
<sup>1</sup> BiosCell S.A., Banco de Células Madres Expandidas. Avenida Zañartu 1482, Ñuñoa, Santiago, Chile.

**Palabras claves:** células madre, pulpa dental, medicina regenerativa, biobanking/banco de células madre, terapia celular, expansión celular.

### INTRODUCCIÓN

Como adultos estamos compuestos por un gran número de células, que durante nuestro desarrollo han adquirido compromisos que les permiten cumplir con funciones celulares específicas, por ejemplo, la neurona se especializó en la transmisión del impulso nervioso pero no posee la capacidad de sintetizar hueso como el osteoblasto. Así, toda célula de nuestro cuerpo proviene de una célula madre sin compromiso o “indiferenciada”, pero cuyas células hijas adquieren compromisos y se diferencian, unas a neuronas, otras a osteoblastos, etc.

Una célula madre es aquella que se encuentra en un estado indiferenciado y puede multiplicarse y según su origen las podemos clasificar en 2 grandes categorías: embrionarias y adultas o post-natales. Las células madre embrionarias son aquellas que encontramos en el embrión temprano, en el estado de blastocisto<sup>[1]</sup>. Estas células son “pluripotentes” ya que tienen gran potencial de diferenciación a células de todos los linajes embrionarios (endodermo, mesodermo y ectodermo), sin embargo, su obtención implica la manipulación y a menudo, destrucción del embrión, por ello es que en países como Chile, la legislación prohíbe su utilización. A diferencia de estas células pluripotentes, las células madre adultas, poseen un potencial de diferenciación más restringido y se denominan “multipotentes”, ya que pueden diferenciarse a células de su mismo linaje embrionario, por ejemplo, la célula madre multipotente hematopoyética sólo puede dar origen a células hijas diferenciadas de su mismo linaje, el de la



Gabriela Zavala V.<sup>1</sup> Ingeniera en Biotecnología Molecular, PhD(c)

Imagen se utilizó en paper “Functional analysis reveals angiogenic potential of human mesenchymal stem cell from Wharto's jelly in dermal regeneration. *Angiogenesis* 2014”

sangre, así es como esta célula madre puede dar origen a glóbulos rojos, leucocitos, plaquetas, etc<sup>[2,3]</sup>. Existe un tercer tipo de células madre que involucra tanto el concepto de “pluripotencia” como adulta, son las llamadas Células Madre Pluripotentes Inducidas o iPS, desarrolladas por el actual premio Nobel Shinya Yamanaka<sup>[4]</sup>. Estas células provienen de una fuente adulta, como por ejemplo fibroblastos de piel, pero son modificadas en el laboratorio para “retroceder en el desarrollo” de esta forma vuelven a adquirir las características de una célula madre embrionaria “pluripotente”, lo que se consigue a través de la manipulación genética de ellas. Lo que trae como beneficio que cualquiera de nosotros pueda obtener células pluripotentes a partir de una biopsia de piel, pero las iPS traen consigo ciertos riesgos, como es la alta incidencia de cáncer, por ello, actualmente, se están utilizando como modelos de distintas enfermedades para poder evaluar la eficacia de drogas en células de los mismos pacientes<sup>[5]</sup>. En esta revisión nos enfocaremos en las células madre multipotentes, especialmente las obtenidas a partir de dientes.



## Células Madre Multipotentes y MSC

Son aquellas con un potencial de diferenciación más restringido y se encuentran en distintos tejidos del cuerpo con el fin de mantener la homeostasis tisular. Entre ellas encontramos a la Célula Madre Mesenquimática o MSC, la cual ha alcanzado gran notoriedad ya que se encuentran en todos los tejidos de nuestro cuerpo, y son la promesa de la medicina regenerativa<sup>[6]</sup>. Las MSC se pueden obtener desde tejido adiposo, médula ósea, cordón umbilical y de distintas estructuras del diente, entre otras fuentes, por ello, la investigación se ha orientado en el uso de estas células por la facilidad en su obtención<sup>[7,8]</sup>.

Dentro de las fuentes de MSC más accesibles encontramos aquellas obtenidas desde los dientes deciduos, ya que todos los individuos mudan sus dientes primarios (de leche), o algunos deben someterse a la extracción de los terceros molares. Estos dientes poseen distintas estructuras en que existen poblaciones de MSC que se encuentran allí para colaborar con la mantención de la pieza dental, la cual se ve sometida a un constante estrés mecánico y ambiental<sup>[9,10]</sup>.

En esta revisión pretendemos dar una mirada al estado del arte, empezando por describir los distintos tipos de MSC que se encuentran en las estructuras orales para luego mostrarles la investigación en curso y aplicaciones de estas células en el ámbito odontológico y otras áreas.

## Células madre de origen dentario

Se han aislado células madre desde las distintas estructuras blandas del diente: ligamento periodontal (PDLSCs, Periodontal Ligament Stem Cells), folículo dental (DFPCs, Dental Follicle Precursor Cells), papila dental (SCAPs, Stem Cells of Apical Papilla) y pulpa dental (DPSCs,

Dental Pulp Stem Cells y SHEDs, Stem Cells for human Exfoliated Deciduous Teeth).

## Ligamento periodontal (PDLSCs, Periodontal Ligament Stem Cells)

El ligamento periodontal corresponde a la estructura que mantiene unido al diente con la superficie alveolar, además contribuye a su nutrición y reparación. Está compuesto por fibras de tejido conectivo y múltiples poblaciones celulares: fibroblastos, células epiteliales, precursores de osteoblastos, cementoblastos y células mesenquimáticas, que corresponden a la población de células madre que permiten la regeneración de este tejido bajo constante presión mecánica. Las PDLSCs fueron descritas en año 2004 utilizando terceros molares. Los marcadores característicos son STRO-1 y CD146 y también poseen potencial de diferenciación osteogénica, adipogénica y condrogénica, entre otros<sup>[11]</sup>.

## Folículo dental (DFPCs, Dental Follicle Precursor Cells)

El folículo es una estructura en forma de saco que contiene en su interior el primordio dental antes de su erupción. Contribuye a la generación del periodonto, el cual está compuesto por diferentes tipos celulares, lo que hizo pensar a los investigadores que en esta estructura también podrían encontrarse células progenitoras. Así, el año 2005 se identificó una población de células madre a partir de terceros molares. Al igual que otras células madre multipotentes, poseen potencial de diferenciación a los linajes ya citados y también al neurogénico<sup>[12]</sup>.

## Papila dental apical (SCAP, Stem Cells of Apical Papilla)

La papila corresponde al antecesor de la pulpa dental durante el desarrollo y contribuye al desarrollo de la raíz. En el año 2006 se identificó una población de células madre multipotentes aisladas desde la región apical de la papila de terceros molares. Son clonogénicas, poseen potencial de diferenciación y proliferan a mayor velocidad que las DPSCs. Se demostró que in vivo pueden generar tejido similar a la dentina y a la pulpa<sup>[13,14]</sup>.

## DPSC (dental pulp stem cells)

La pulpa dental es un tejido oral desmineralizado que ocupa la cavidad central del diente y está compuesta de tejido conectivo, células mesenquimáticas, fibras nerviosas y posee vasos sanguíneos y linfáticos. Está compuesta principalmente por agua (75-80%) y en menor medida por

compuestos orgánicos (20-25%). Su principal función es producir y mantener la dentina, otro tejido oral responsable de la resistencia mecánica del diente.

Se creía que los odontoblastos provenían de la proliferación y diferenciación de una población progenitora residente en la pulpa, pero no fue hasta el año 2000, en que se describió por primera vez la existencia de precursores identificados como DPSC (del inglés Dental Pulp Stem Cells). Gronthos y col. aislaron células madre mediante digestión enzimática desde la pulpa dental de terceros molares extraídos de adultos entre 19 y 29 años. En este trabajo, los autores utilizaron células expandidas desde la pulpa y demostraron la capacidad de estas células de formar colonias, expresión de marcadores, potencial de diferenciación a linajes osteogénicos y adipogénicos *in vitro* y formación de estructuras del tipo dentina *in vivo*<sup>[15,16]</sup>.

#### **SHEDs (stem cells from human exfoliated deciduous teeth)**

Durante el desarrollo de los mamíferos ocurre la transición desde dientes primarios (o deciduos) a dientes definitivos. Es un proceso dinámico donde ocurre la reabsorción de las raíces del diente primario en paralelo a la aparición del diente definitivo.

El año 2003, Miura y col. aislaron células madre desde la pulpa dental desde dientes deciduos, altamente proliferativas y clonogénicas. Las SHEDs son similares a las DPSCs, pero se diferencian en que la fuente de las células es la pulpa dental de la corona del diente y, que las SHEDs al inicio no crecen como células aisladas, sino agrupadas en colonias, que al ser disgregadas, permiten el crecimiento de células aisladas. Otra diferencia muy importante, es que las SHEDs presentan una tasa de proliferación más alta que las DPSCs, lo que permitiría obtener un alto número celular en menos tiempo<sup>[17]</sup>.

Como otras células mesenquimáticas, las SHEDs tienen potencial de diferenciación adipogénico, condrogénico, miogénico, neurogénico, odontogénico, y osteogénico. Y son positivas para los marcadores mesenquimáticos CD146 y STRO-1 y los marcadores embrionarios Nanog, Nestin y OCT4.

Respecto del potencial odontogénico, SHEDs y DPSCs son similares, pero al parecer no son idénticas, ya que los ensayos demuestran que las primeras no forman tejido pulpar luego de un trasplante *in vivo*. Asimismo, las SHEDs no se diferencian osteoblastos u osteocitos, pero sí inducen

a otras células a diferenciarse en este linaje. Por ello, las SHEDs más que poseer un potencial de diferenciación osteogénico *per se*, tienen un poder inductivo. Estas evidencias hacen pensar que las SHEDs presentan un estado inmaduro respecto de las DPSCs.

### **Aplicaciones en odontología**

#### **Regeneración pulpar**

La estabilidad y durabilidad de la pieza dental depende de la salud de la pulpa. Cuando la pulpa está comprometida el diente se daña, se fractura y en el mediano plazo, la pieza puede perderse. La pulpa puede dañarse seriamente luego de una infección bacteriana, y la pulpectomía parcial no resuelve el problema ya que suele quedar un remanente de microorganismos que mantienen la infección<sup>[10,18]</sup>. La alternativa existente es la realización de un tratamiento de conducto, en donde se elimina el tejido pulpar y el espacio remanente es desinfectado y rellenado con material artificial. Actualmente existen interesantes avances en el campo de la regeneración pulpar, técnicas que se valen de la utilización de células madre, bio-andamios tridimensionales y factores de crecimiento para regenerar el tejido y revitalizar el diente<sup>[19-22]</sup>.

La complejidad estructural y funcional de la pulpa, la hacen un tejido complejo, por ello la reconstitución de este tejido presenta múltiples desafíos: posee varios tipos celulares, presenta una red nerviosa compleja, contiene la dentina, entre otras cualidades. Por ello la estrategia más atractiva es la utilización de alguna población celular que pueda generar toda esta diversidad, como lo son las células madre DPSCs y SHED<sup>[23,24]</sup>.

Este potencial fue demostrado al trasplantar DPSCs en conjunto con polvo de hidroxiapatita/fosfato tricálcico (HA/TCP) en un modelo animal, ya que luego de 6 semanas del tratamiento, se generó una estructura muy similar a la dentina rodeando a las partículas de (HA/TCP). Asimismo, las células expresaron la proteína DSPP (Sialofosfoproteína de la dentina, proteína específica de dicho tejido) y el nuevo tejido se vascularizó<sup>[15]</sup>. Otro grupo obtuvo resultados similares utilizando células de perro. Las células fueron aplicadas en los canales de la raíz y se observó la formación de dentina luego de 14 días, innervación y vascularización luego de un mes post-tratamiento<sup>[24]</sup>. Otros trabajos muy interesantes a revisar:<sup>[19,22,23,25,26]</sup>.



Otras aproximaciones están utilizando más de un tipo celular para asegurar la regeneración funcional, sumado al uso de bio-andamios. Por ejemplo, un hidrogel como andamio, DPSCs para la formación de tejido pulpar y células endoteliales para estimular la formación de vasos sanguíneos favoreció la generación de dentina estructuras vasculares in vitro y formación de tejido pulpar en ratones<sup>[27]</sup>.

### Reconstrucción de la pieza dental

La pérdida de una pieza dental no sólo trae consigo las limitaciones propias de la carencia de una herramienta masticatoria, además tiene implicancias estéticas y psicológicas que estimulan el desarrollo de alternativas terapéuticas de parte de los profesionales de la odontología. El ideal es lograr la recuperación funcional de la o las piezas perdidas. El objetivo es obtener la regeneración de la raíz, ligamento periodontal, inervación y vascularización de la pieza. La corona también es fundamental, pero ésta puede ser reemplazada por materiales sintéticos<sup>[28]</sup>.

El desafío actual es identificar una fuente celular que posean las mismas propiedades de las células germinales del diente y que además puedan multiplicarse y diferenciarse a varios tipos de tejido, ya que el diente tiene un origen embrionario mixto, donde la interacción del mesénquima y del epitelio dan origen a las distintas estructuras<sup>[29]</sup>.

Por ello muchas de las aproximaciones ha sido utilizar más de un tipo celular, sumado a las DPSCs o SHEDs, pero in vitro. Wei y col. utilizaron MSC alogénicas para generar una “bio-raíz” a la cual se le asoció a una corona artificial. Se utilizó un bio-andamio de HA/TCP el cual se cargó de DPSCs y PDLSCs modificadas y se aplicó en el alvéolo de la mandíbula, posteriormente el bio-andamio fue cubierto por una corona artificial. Luego de 6 meses, la “bio-raíz” se comporta y se ve como una raíz normal, con generación de

dentina y una estructura similar al ligamento periodontal. Lo que demuestra el uso exitoso de células MSC alogénicas en la regeneración de estructuras orales<sup>[30]</sup>. Ikeda y col. obtuvieron el reemplazo de un diente totalmente funcional en ratones, para ello desarrollaron un diente a partir de células epiteliales y MSC en un gel de colágeno que fueron trasplantados en el hueso alveolar. El diente “artificial” tenía la forma dental correcta, dureza gracias a la mineralización y respuesta al estímulo mecánico<sup>[31]</sup>. Resultados similares obtuvo Oshima y col. quienes utilizaron la misma fuente celular y lograron generar un diente bio-diseñado, lo trasplantaron en una lesión en el hueso alveolar y nos entregan la primera evidencia de regeneración funcional a través del trasplante de un diente bio-diseñado en el laboratorio<sup>[32]</sup>.

El último y más fascinante adelanto estuvo a cargo del grupo de Arany y col. que demostraron que las células pueden fotoactivarse mediante la utilización de un láser LPL de baja intensidad (low-power laser). El láser activa una vía de señalización específica que estimula a las células madre dentales a diferenciarse in vitro y regeneración de dentina in vivo en un modelo animal. Lo que abre la posibilidad de activar las células madre residentes para aplicaciones en medicina regenerativa<sup>[33]</sup>.

Cada día la literatura aumenta, para mayores detalles pueden consultar las siguientes revisiones<sup>[34-37]</sup>.

### Uso de MSC en implantes dentales

Una de las dificultades con las que se encuentran los profesionales al usar implantes, es el escaso volumen de hueso alveolar. Las deficiencias alveolares pueden ser resultado de extracción de piezas dentales y la subsecuente absorción del hueso, periodontitis, trauma o defectos en el desarrollo, por lo cual reconstruir la zona es un desafío. Por lo tanto, a menudo se requeriría aumentar el volumen óseo para permitir una implantación exitosa, que permanezca en el tiempo y sea estéticamente adecuada. Algunas técnicas utilizan implantes de hueso (extraídos desde el mentón o del ángulo de la mandíbula), pero éstos no siempre son exitosos en implantarse, por ello se ha ideado sustitutos, tales como materiales sintéticos, hueso de un donante humano o animal o materiales de origen biológico pero estos materiales muestran pobres resultados en injertarse, de ahí que se está intentando utilizar andamios combinados con células madre del mismo paciente<sup>[38,39]</sup>. Algunos trabajos han sido publicados utilizando MSC de médula ósea<sup>[40-42]</sup>, pero hay prometedores resultados con MSC aisladas de pulpa

dental, ya que estudios indican que serían más efectivas que otras MSC en promover la regeneración ósea de la zona<sup>[43]</sup>.

Se inyectaron DPSCs de perro, utilizando PRP (plasma rico en plaquetas) como vehículo de inyección en defectos óseos alveolares, luego de 16 semanas se observó la formación de hueso maduro y de vasos sanguíneos, lo que abre la opción de utilizar esta combinación para preparar la zona ósea previa a la colocación de un implante dental y así permitir la osteointegración exitosa<sup>[44, 45]</sup>. El uso de PRP también se ha extendido debido a su fácil obtención y prometedores resultados<sup>[46]</sup>.

## Aplicaciones en otras áreas

### Neurología

Las enfermedades neurológicas y degenerativas afectan el sistema nervioso, el cual por sus características estructurales y funcionales posee una disminuida capacidad regenerativa intrínseca. Al afectar este sistema la calidad de vida se ve altamente comprometida, ya que se afecta la movilidad, autonomía, cognición, control de impulsos, control de movimiento, senilidad, entre otras áreas según la enfermedad. Según la Organización Mundial de la Salud (WHO) se proyecta que para el 2015, es que el 11,84% de los fallecimientos a nivel mundial será por causa de desórdenes degenerativos (link). Por estas características, la medicina a nivel mundial ha centrado sus esfuerzos en desarrollar terapias que curen, detengan o mejoren el cuadro clínico de todos estos pacientes. Sumado al desarrollo de fármacos, las células madre (CM) han despertado gran interés, entre ellas las provenientes de la pulpa dental. A diferencia de las células madre neurales, las dentales se encuentran en mayor número, tienen fácil acceso y pueden ser multiplicadas para alcanzar números suficientes para ser utilizadas en terapias clínicas. Las CM de la pulpa expresan marcadores de linaje embrionario y pluripotencia (OCT4, Nanog, SSEA-4 y TRA-1-60), y como son de origen ectodérmico al igual que el sistema nervioso, se hacen atractivas para su estudio y uso en estas enfermedades. Son multipotentes y por ello pueden diferenciarse a otros linajes, incluyendo el neural.

La investigación es amplia y hay múltiples reportes acerca del potencial de diferenciación de las DPSCs a linajes neurales luego de la estimulación con medios de crecimiento neurogénicos<sup>[47]</sup>. Las DPSCs expresan marcadores neurales cuando son tratadas con dichos medios y se ha observado la formación de neuroesferas. DPSCs expandidas en el

laboratorio responden a la inducción neural in vitro e in vivo. Lo que es notorio, es que las DPSCs diferenciadas al linaje neural presentan actividad eléctrica, específicamente producen corrientes de sodio, lo que demuestra la adquisición de un carácter neural funcional y no sólo morfológico<sup>[48]</sup>. Se han diferenciado a neuronas dopaminérgicas in vivo<sup>[49]</sup>, a células de Schwann, componentes de la vaina de mielina en el sistema nervioso periférico<sup>[50]</sup>, promueven la protección y regeneración axonal<sup>[51]</sup>. Nosrat y col. demostraron que las DPSCs promueven la sobrevivencia de neuronas motoras en un modelo de daño medular en ratas<sup>[52]</sup>. Las DPSCs han demostrado ser neuroprotectoras en modelos in vitro de enfermedad de Alzheimer y Parkinson<sup>[53]</sup>. DPSCs humanas o de rata producen factores neurotróficos como NGF (factor de crecimiento nervioso), BDNF (factor de crecimiento derivado de cerebro) y GDNF (factor neurotrófico derivado de células gliales) que promueven la sobrevivencia de neuronas dopaminérgicas<sup>[54]</sup>. Lo cual es de suma relevancia ya que producción de factores neuroprotectores por parte de las DPSCs inducen la diferenciación de células madre neurales propias de los tejidos afectados, lo que aportaría con la recuperación de las áreas lesionadas. Como fue demostrado en el trabajo de Almeida y col. donde el trasplante de DPSCs en el centro de la médula espinal dañada de un animal, estimuló la preservación y organización de extensas áreas de mielina<sup>[55]</sup>.

### Revascularización

El daño a los vasos sanguíneos se genera en la isquemia de pierna, infarto al miocardio u otras enfermedades cardiovasculares, lo que impide la completa y correcta irrigación de los tejidos. Las células mesenquimáticas multipotentes han sido muy utilizadas en este contexto, tanto en modelos animales<sup>[56-58]</sup> como en humanos<sup>[59]</sup> debido a que las MSC producen un rico conjunto de factores de crecimiento que favorecen la generación de nuevos vasos sanguíneos, en el proceso de angiogénesis. Las DPSCs tienen propiedades angiogénicas, producen VEGF, FGF2, MMP-9, MCP-1 entre muchos otros y favorecen el proceso en modelos in vitro e in vivo<sup>[60]</sup>. Las DPSCs también son vasculogénicas, ya que in vitro tienen potencial de diferenciarse a vasos sanguíneos o a sus estructuras relacionadas, como lo demostraron en un modelo animal de isquemia en la pierna<sup>[61]</sup>. El uso de DPSCs en un modelo de infarto al miocardio en rata estimuló la reparación del músculo cardíaco, lo cual estuvo acompañado de un aumento en el número de vasos sanguíneos. Se cree que esta reparación se debió a los factores de crecimiento



producidos por las DPSCs y no por la diferenciación de éstas en tejido muscular<sup>[62]</sup>, pero sí se ha demostrado la diferenciación de las DPSCs a células musculares<sup>[63]</sup>.

### Regeneración Hepática

El hígado es el órgano más grande de nuestro cuerpo y cumple funciones vitales. Aunque posee la capacidad de regenerarse, algunas enfermedades obligan al reemplazo del órgano haciendo necesario un trasplante de hígado. Existen múltiples aproximaciones que involucran el uso de MSC en esta área. El hígado es un órgano de compleja estructura y está compuesto en un 70-80% de hepatocitos, la unidad funcional de este órgano. Por ello, se ha intentado obtener hepatocitos diferenciados a partir de MSC de distintas fuentes, incluyendo a las DPSCs. Estudios in vitro han demostrado que las DPSCs pueden diferenciarse y adquirir la morfología y funcionalidad similares a hepatocitos<sup>[64,65]</sup>. Aún queda mucho camino para la obtención de un órgano en su totalidad, pero las investigaciones son prometedoras.

### Regeneración de Córnea

La córnea es la estructura del ojo que permite la refracción y transmisión de la luz hacia estructuras internas del ojo, además de permitir el enfoque. Como es la parte más externa del ojo, está sometida a continuo estrés de parte del ambiente (sequedad, luz ultravioleta, infecciones y lesiones)<sup>[66,67]</sup>. Por ello, la deficiencia corneal es la primera causa de ceguera a nivel mundial. Las MSC migran a los sitios dañados y promueven procesos de reparación, en conjunto con disminuir la inflamación, por estas propiedades terapéuticas las MSC y las DPSCs se han propuesto como opciones de tratamiento. En un modelo animal de daño corneal, Gomes y col. utilizó DPSCs sembradas en un bio-andamio de membrana amniótica y las aplicó sobre la córnea, luego de 3 meses se observó la regeneración del epitelio corneal<sup>[68]</sup>. Por lo cual se demostró que el uso de

DPSCs es una alternativa para la regeneración de la córnea.

### Diabetes tipo 1

La diabetes tipo 1 se desencadena cuando las células beta del páncreas dejan de producir la insulina que mantiene estables los niveles de azúcar en la sangre. Sin insulina, el azúcar se acumula en la sangre y genera los síntomas típicos de esta enfermedad. Las causas no son del todo comprendidas, pero sí se cree que ocurre una actividad exagerada del sistema inmune que finalmente daña específicamente a las células beta, lo que impide la producción de la hormona. La única terapia disponible es el uso de insulina inyectable diariamente. Una opción terapéutica es obtener un reemplazo de las células beta enfermas a través del uso de células madre. Se han usado CM de origen embrionario y adulto, entre ellas las DPSCs<sup>[69,70]</sup>. Ha sido demostrado que estas células cuando son sometidas a medios de diferenciación específicos pueden adquirir una morfología similar a los islotes en que se encuentran las células beta en el páncreas, de hecho, las células pueden producir insulina en respuesta al aumento en los niveles de glucosa in vitro<sup>[71]</sup>. En modelos animales de esta patología se ha mostrado que las células beta obtenidas a partir de DPSCs y SHEDs logran revertir los síntomas de la enfermedad regulando los niveles de la glicemia, siendo las SHEDs más propicias para estos efectos<sup>[72]</sup>.

### Banking/BiosCell

La obtención de MSC se ha extendido en varias áreas de la medicina y estética, y las fuentes más utilizadas han sido el tejido adiposo y la médula ósea, pero ambas fuentes requieren de intervenciones que pueden ser invasivas y molestas. Por ello, las MSC obtenidas desde la pulpa dental presentan como primera ventaja, su fácil obtención. Para los dientes de leche, basta con que los padres esperen su caída para poder tener acceso a la pulpa, en cambio, con terceros molares, la persona debe someterse de forma obligatoria a la remoción de ellos por motivos de ortodoncia. Asimismo, ambas formas de procuramiento implican la obtención de las muestras en personas jóvenes, hasta 30 años, lo que otorga la ventaja de obtener las MSC más jóvenes, y por lo tanto, con las propiedades terapéuticas más conservadas que en el caso de muestras de MSC obtenidas en edades más avanzadas.

Por ello es que se ha advenido en nacimiento del concepto de biobanking, el cual permite la preservación de las MSC en cualquier momento de la vida con el objetivo de

almacenarlas como una opción terapéutica a nivel personal y familiar para ser utilizadas en terapias actualmente en aplicación o aquellas que aún se encuentran en etapa de investigación<sup>[73,74]</sup>.

El número de MSC presentes en la pulpa es del orden de los miles, número insuficiente para cualquier terapia dental u en otra área. Para su uso se requiere un número celular del orden de millones de células, y además en muchos tratamientos se requiere de más de una dosis de células, lo que apoya el concepto del almacenamiento de las células MSC multiplicadas y en más de una dosis, previo a la criopreservación, opción que ofrece BiosCell, como el único banco de células expandidas de Latinoamérica. BiosCell expande células de dientes de leche o de terceros molares y se almacenan en el formato de criotubos o bolsas. El primero consiste en la cantidad de 2 millones de células que puede ser re-expandidos en cualquier momento, mientras

que lo segundo corresponde a 50 millones de células que pueden ser descongelados y utilizados de forma inmediata sin necesidad de una expansión adicional. Actualmente, más de 100 pacientes se han tratado con MSC expandidas de médula ósea, y el número de personas que almacena MSC expandidas de diente, aumenta día a día, sobre todo a nivel familiar, ya que muchos padres no almacenaron células madres al momento del nacimiento de sus hijos, y ven a BiosCell como la opción de poder realizarlo con los dientes de leche de sus hijos. Los dientes de leche ya no van al ratoncito, van a BiosCell y la recompensa es obtener este seguro para su uso a futuro, tanto para el niño o niña como para toda la familia, ya que no existen problemas de compatibilidad y pueden ser usados por toda la familia directa, basta con que un integrante guarde sus células y BiosCell le garantiza que tendrá células suficientes para tratar a todo el grupo familiar, gracias a que es el único Banco capaz de cultivarlas y expandirlas.

## Referencias

- Vazin, T. and W.J. Freed, Human embryonic stem cells: derivation, culture, and differentiation: a review. *Restor Neurol Neurosci*, 2010. 28(4): p. 589-603.
- Chen, J., L. Zhou, and S.Y. Pan, A brief review of recent advances in stem cell biology. *Neural Regen Res*, 2014. 9(7): p. 684-7.
- Hsu, Y.C. and E. Fuchs, A family business: stem cell progeny join the niche to regulate homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012. 13(2): p. 103-14.
- Yamanaka, S. and H.M. Blau, Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches. *Nature*, 2010. 465(7299): p. 704-12.
- Kim, J.S., et al., Reprogrammed pluripotent stem cells from somatic cells. *Int J Stem Cells*, 2011. 4(1): p. 1-8.
- Nombela-Arrieta, C., J. Ritz, and L.E. Silberstein, The elusive nature and function of mesenchymal stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011. 12(2): p. 126-31.
- Parekkadan, B. and J.M. Milwid, Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annu Rev Biomed Eng*, 2010. 12: p. 87-117.
- Wei, X., et al., Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. *Acta Pharmacol Sin*, 2013. 34(6): p. 747-54.
- Casagrande, L., et al., Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. *Odontology*, 2011. 99(1): p. 1-7.
- Tatullo, M., et al., Dental pulp stem cells: function, isolation and applications in regenerative medicine. *J Tissue Eng Regen Med*, 2014.
- Seo, B.M., et al., Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, 2004. 364(9429): p. 149-55.
- Morsczeck, C., et al., Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol*, 2005. 24(2): p. 155-65.
- Sonoyama, W., et al., Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One*, 2006. 1: p. e79.
- Sonoyama, W., et al., Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod*, 2008. 34(2): p. 166-71.
- Gronthos, S., et al., Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000. 97(25): p. 13625-30.
- Gronthos, S., et al., Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*, 2002. 81(8): p. 531-5.
- Miura, M., et al., SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. 100(10): p. 5807-12.
- Huang, A.H., et al., Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a supernumerary tooth. *J Oral Pathol Med*, 2008. 37(9): p. 571-4.
- Albuquerque, M.T., et al., Tissue-engineering-based Strategies for Regenerative Endodontics. *J Dent Res*, 2014.
- Clark, S.J., Summary of: Regenerative endodontics. *Br Dent J*, 2014. 216(6): p. 356-7.
- Petrino, J.A., et al., Challenges in regenerative endodontics: a case series. *J Endod*, 2010. 36(3): p. 536-41.
- Iohara, K., et al., Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with stromal cell-derived factor-1. *Tissue Eng Part A*, 2011. 17(15-16): p. 1911-20.
- Nakashima, M. and K. Iohara, Mobilized dental pulp stem cells for pulp regeneration: initiation of clinical trial. *J Endod*, 2014. 40(4 Suppl): p. S26-32.
- Nakashima, M. and K. Iohara, Regeneration of dental pulp by stem cells. *Adv Dent Res*, 2011. 23(3): p. 313-9.
- Ishizaka, R., et al., Regeneration of dental pulp following pulpectomy by fractionated stem/progenitor cells from bone marrow and adipose tissue. *Biomaterials*, 2012. 33(7): p. 2109-18.
- Nakashima, M., K. Iohara, and M. Sugiyama, Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2009. 20(5-6): p. 435-40.
- Dissanayaka, W.L., et al., The interplay of dental pulp stem cells and endothelial cells in an injectable peptide hydrogel on angiogenesis and pulp regeneration in vivo. *Tissue Eng Part A*, 2014.

28. Volponi, A.A., Y. Pang, and P.T. Sharpe, Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends Cell Biol*, 2010. 20(12): p. 715-22.
29. Tucker, A. and P. Sharpe, The cutting-edge of mammalian development; how the embryo makes teeth. *Nat Rev Genet*, 2004. 5(7): p. 499-508.
30. Wei, F., et al., Functional tooth restoration by allogeneic mesenchymal stem cell-based bio-root regeneration in swine. *Stem Cells Dev*, 2013. 22(12): p. 1752-62.
31. Ikeda, E., et al., Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009. 106(32): p. 13475-80.
32. Oshima, M., et al., Functional tooth regeneration using a bioengineered tooth unit as a mature organ replacement regenerative therapy. *PLoS One*, 2011. 6(7): p. e21531.
33. Arany, P.R., et al., Photoactivation of endogenous latent transforming growth factor-beta1 directs dental stem cell differentiation for regeneration. *Sci Transl Med*, 2014. 6(238): p. 238ra69.
34. Bluteau, G., et al., Stem cells for tooth engineering. *Eur Cell Mater*, 2008. 16: p. 1-9.
35. Yen, A.H. and P.T. Sharpe, Stem cells and tooth tissue engineering. *Cell Tissue Res*, 2008. 331(1): p. 359-72.
36. Egusa, H., et al., Stem cells in dentistry--Part II: Clinical applications. *J Prosthodont Res*, 2012. 56(4): p. 229-48.
37. Oshima, M. and T. Tsuji, Functional tooth regenerative therapy: tooth tissue regeneration and whole-tooth replacement. *Odontology*, 2014. 102(2): p. 123-36.
38. Jakobsen, C., et al., Mesenchymal stem cells in oral reconstructive surgery: a systematic review of the literature. *J Oral Rehabil*, 2013. 40(9): p. 693-706.
39. Balaji, S.M., Augmentation of residual alveolar bone height with tissue engineering for dental implant placement. *Indian J Dent Res*, 2014. 25(3): p. 410-2.
40. Ito, K., et al., Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue-engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res*, 2006. 17(5): p. 579-86.
41. Filho Cerruti, H., et al., Allogeneous bone grafts improved by bone marrow stem cells and platelet growth factors: clinical case reports. *Artif Organs*, 2007. 31(4): p. 268-73.
42. Yoshioka, M., et al., Bone regeneration in artificial jaw cleft by use of carbonated hydroxyapatite particles and mesenchymal stem cells derived from iliac bone. *Int J Dent*, 2012. 2012: p. 352510.
43. Ito, K., et al., Osteogenic potential of effective bone engineering using dental pulp stem cells, bone marrow stem cells, and periosteal cells for osseointegration of dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2011. 26(5): p. 947-54.
44. Yamada, Y., et al., A feasibility of useful cell-based therapy by bone regeneration with deciduous tooth stem cells, dental pulp stem cells, or bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for clinical study using tissue engineering technology. *Tissue Eng Part A*, 2010. 16(6): p. 1891-900.
45. Yamada, Y., et al., Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. *Cell Transplant*, 2011. 20(7): p. 1003-13.
46. Li, Q., et al., Platelet-rich fibrin promotes periodontal regeneration and enhances alveolar bone augmentation. *Biomed Res Int*, 2013. 2013: p. 638043.
47. Varga, G. and G. Gerber, Mesenchymal stem cells of dental origin as promising tools for neuroregeneration. *Stem Cell Res Ther*, 2014. 5(2): p. 61.
48. Arthur, A., et al., Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. *Stem Cells*, 2008. 26(7): p. 1787-95.
49. Kanafi, M., et al., Midbrain cues dictate differentiation of human dental pulp stem cells towards functional dopaminergic neurons. *J Cell Physiol*, 2014. 229(10): p. 1369-77.
50. Martens, W., et al., Human dental pulp stem cells can differentiate into Schwann cells and promote and guide neurite outgrowth in an aligned tissue-engineered collagen construct in vitro. *FASEB J*, 2014. 28(4): p. 1634-43.
51. Mead, B., et al., Intravitreally transplanted dental pulp stem cells promote neuroprotection and axon regeneration of retinal ganglion cells after optic nerve injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013. 54(12): p. 7544-56.
52. Nosrat, I.V., et al., Dental pulp cells produce neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons in vitro, and rescue motoneurons after spinal cord injury. *Dev Biol*, 2001. 238(1): p. 120-32.
53. Apel, C., et al., The neuroprotective effect of dental pulp cells in models of Alzheimer's and Parkinson's disease. *J Neural Transm*, 2009. 116(1): p. 71-8.
54. Nosrat, I.V., et al., Dental pulp cells provide neurotrophic support for dopaminergic neurons and differentiate into neurons in vitro; implications for tissue engineering and repair in the nervous system. *Eur J Neurosci*, 2004. 19(9): p. 2388-98.
55. de Almeida, F.M., et al., Human dental pulp cells: a new source of cell therapy in a mouse model of compressive spinal cord injury. *J Neurotrauma*, 2011. 28(9): p. 1939-49.
56. Wu, Y., et al., Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells*, 2007. 25(10): p. 2648-59.
57. Shin, L. and D.A. Peterson, Human mesenchymal stem cell grafts enhance normal and impaired wound healing by recruiting existing endogenous tissue stem/progenitor cells. *Stem Cells Transl Med*, 2013. 2(1): p. 33-42.
58. Edwards, S.S., et al., Functional analysis reveals angiogenic potential of human mesenchymal stem cells from Wharton's jelly in dermal regeneration. *Angiogenesis*, 2014.
59. Guiducci, S., et al., Autologous mesenchymal stem cells foster revascularization of ischemic limbs in systemic sclerosis: a case report. *Ann Intern Med*, 2010. 153(10): p. 650-4.
60. Bronckaers, A., et al., Angiogenic properties of human dental pulp stem cells. *PLoS One*, 2013. 8(8): p. e71104.
61. Iohara, K., et al., A novel stem cell source for vasculogenesis in ischemia: subfraction of side population cells from dental pulp. *Stem Cells*, 2008. 26(9): p. 2408-18.
62. Gandia, C., et al., Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction. *Stem Cells*, 2008. 26(3): p. 638-45.

63. Arminan, A., et al., Cardiac differentiation is driven by NKX2.5 and GATA4 nuclear translocation in tissue-specific mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, 2009. 18(6): p. 907-18.
64. Fiegel, H.C., et al., Fetal and adult liver stem cells for liver regeneration and tissue engineering. *J Cell Mol Med*, 2006. 10(3): p. 577-87.
65. Ishkitiev, N., et al., High-purity hepatic lineage differentiated from dental pulp stem cells in serum-free medium. *J Endod*, 2012. 38(4): p. 475-80.
66. Ramachandran, C., et al., Concise Review: The Coming of Age of Stem Cell Treatment for Corneal Surface Damage. *Stem Cells Transl Med*, 2014.
67. Li, F. and S.Z. Zhao, Mesenchymal stem cells: Potential role in corneal wound repair and transplantation. *World J Stem Cells*, 2014. 6(3): p. 296-304.
68. Gomes, J.A., et al., Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of human immature dental pulp stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010. 51(3): p. 1408-14.
69. Carnevale, G., et al., In vitro differentiation into insulin-producing beta-cells of stem cells isolated from human amniotic fluid and dental pulp. *Dig Liver Dis*, 2013. 45(8): p. 669-76.
70. Guimaraes, E.T., et al., Transplantation of stem cells obtained from murine dental pulp improves pancreatic damage, renal function, and painful diabetic neuropathy in diabetic type 1 mouse model. *Cell Transplant*, 2013. 22(12): p. 2345-54.
71. Govindasamy, V., et al., Differentiation of dental pulp stem cells into islet-like aggregates. *J Dent Res*, 2011. 90(5): p. 646-52.
72. Kanafi, M.M., et al., Transplantation of islet-like cell clusters derived from human dental pulp stem cells restores normoglycemia in diabetic mice. *Cytotherapy*, 2013. 15(10): p. 1228-36.
73. Perry, B.C., et al., Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp-derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use. *Tissue Eng Part C Methods*, 2008. 14(2): p. 149-56.
74. Tirino, V., et al., Identification, isolation, characterization, and banking of human dental pulp stem cells. *Methods Mol Biol*, 2012. 879: p. 443-63.

## Normas de publicación de la revista “Canal Abierto”

La revista “Canal Abierto” de la Sociedad de Endodoncia de Chile es una revista científica que tiene por finalidad publicar trabajos originales que comprendan temas relativos a la endodoncia o afines. La revista aceptará para su estudio y posible publicación todos aquellos manuscritos que no han sido publicados previamente, ni se encuentren pendientes para posible publicación. Los trabajos enviados deben ajustarse a los “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals”, establecidos por el International Committee of Medical Journal Editors en [www.icmje.org](http://www.icmje.org).

Los trabajos serán revisados por el director y miembros del comité editorial, quienes solicitarán, de ser necesario, la opinión de otros expertos. De esta manera el comité editorial resolverá si el trabajo puede ser publicado, publicado con modificaciones o rechazado.

Es responsabilidad de él o los autores obtener autorización para incorporar en sus artículos fotografías que identifiquen a personas y para incluir material que haya sido publicado previamente en otro medio.

Es imprescindible que cada manuscrito posea un responsable a quien hacer llegar comentarios o modificaciones antes de su publicación. Para esto cada manuscrito debe especificar un nombre y correo electrónico.

Los autores que envíen sus artículos autorizan expresamente a publicar el artículo en la revista “Canal Abierto”, en la página web de la Sociedad de endodoncia de Chile y en otros soportes informáticos.

Los artículos deben ser enviados a: [canalabierto@socendochile.cl](mailto:canalabierto@socendochile.cl)

### Formato de manuscritos:

Deben enviarse texto e ilustraciones por separado en formato Word, Microsoft Office, adjuntando original completo (texto con ilustraciones y respectivas leyendas) a doble espacio con margen izquierdo y numeradas correlativamente.

#### Artículos originales.

Deben aportar nuevos datos clínicos o de investigación básica relacionada con la especialidad.

Deberán ajustarse al siguiente esquema:

1) título breve y representativo del contenido (en español e inglés); 2) nombre de él o los autores, identificándolos con su profesión, nombre de pila, apellido paterno e inicial del materno; 3) nombre de la o las instituciones a las que debe darse crédito por la ejecución del trabajo; 4) opcionalmente puede adjuntarse una foto de los autores.

**Resumen y palabras claves:** Resumen de no más de 250 palabras en español e inglés. Debe considerar: objetivos, métodos, resultados, conclusiones. Seleccionar hasta siete palabras claves.

**Introducción:** Presentar en forma resumida el problema a investigar y el objetivo que persigue el estudio.

**Material y método:** Describir el grupo de estudio y control, si hubiese. Especificar la metodología, equipamiento, software y procedimientos realizados con detalle suficiente como para que puedan ser reproducidos por otros investigadores.

**Resultados:** Deben ser presentados en una secuencia lógica con tablas e ilustraciones. Sin interpretar las observaciones efectuadas.

**Discusión:** Realizar una interpretación crítica de los resultados obtenidos, contrastándolos con la información contenida en la literatura científica mundial. Deben enfatizarse los aspectos nuevos e importantes del estudio. En el último párrafo referirse brevemente a las conclusiones obtenidas.

**Agradecimientos:** Sólo mencionar a personas o instituciones que hayan contribuido en forma significativa a la realización del trabajo.

**Bibliografía:** Numerar las referencias o citas bibliográficas correlativamente por el orden que se citen por primera vez en el texto, tablas y leyendas de las figuras. Identificándolas mediante números arábigos colocados entre paréntesis. Se recomienda seguir el estilo propuesto por la National Library of Medicine ([www.nlm.nih.gov](http://www.nlm.nih.gov)) en “Citing Medicine” 2ª edición. Los títulos de los journals deben ser abreviados de acuerdo a la lista indexada por MEDLINE publicada por la NLM.

#### Artículos de revisión.

Suponen la actualización de un tema concreto, desde el punto de vista crítico, científico y objetivo.

Su estructura será esquematizada de acuerdo a las pautas estipuladas para los trabajos originales, omitiendo aquellos puntos que no corresponda. Las revisiones pueden tener una extensión de hasta 25 páginas, pudiendo enviarse fotos, tablas y figuras.

#### Casos clínicos.

Casos poco frecuentes o que aporten nuevos conceptos terapéuticos.

Tendrán una extensión máxima de ocho páginas escritas por una sola cara. Es indispensable enviar fotografías de buena calidad.

Deben adecuarse al siguiente esquema: título, resumen, palabras claves. Introducción, presentación del caso clínico, discusión y bibliografía.

#### Respuestas de expertos.

Consultas de tipo científico o acerca de casos clínicos, nuevas tendencias o propuestas terapéuticas, materiales en desarrollo, etc.

Los expertos serán contactados por el comité editorial de acuerdo a su relevancia e interés en colaborar.

#### Cartas al director.

Comunicaciones breves, centradas en un tema específico y firmadas. Deben ofrecer comentarios o críticas constructivas sobre artículos publicados u otros temas de interés. El director de la revista posee el derecho de publicarla, total o parcialmente.

#### Resúmenes de exposiciones (exposech)

La revista Canal Abierto, como medio de difusión de las actividades de la Sociedad de Endodoncia de Chile, permite la publicación de resúmenes de las conferencias realizadas en las reuniones mensuales de la sociedad siempre que el autor manifieste su interés.

El comité editorial de la revista Canal Abierto ha decidido establecer las siguientes normas para su publicación:

- Fecha de entrega: A más tardar 14 días posterior a la presentación en la reunión mensual de la SECH.
- Formato: Microsoft Word, Arial 12 e interlineado 1,5.
- Extensión máxima: 2 páginas.
- Autor(es): Nombre y título(s) académico. Instituciones y fotografía opcional.
- Imágenes: Enviadas por separado del artículo, con sus respectivas leyendas, créditos y permisos si corresponden.
- Esquema: Título, resumen del contenido de la presentación, conclusión y/o discusión y bibliografía.

La revista Canal Abierto se reserva el derecho a realizar sugerencias que puedan permitir una mejor adaptación y comprensión del resumen de la conferencia.





# RECOMIENDE EL CEPILLO **APROPIADO** PARA LOS PACIENTES QUE NECESITAN UNA LIMPIEZA PROFUNDA Y DELICADA

Usted es consciente de la relevancia que tiene un correcto cepillado para sus pacientes: con inflamación gingival, en tratamiento periodontal, o después de procedimientos quirúrgicos. Todos ellos necesitan un profundo y eficiente acceso a las áreas subgingivales e interdenciales.

El cepillo **Colgate® Slim Soft™** ofrece un revolucionario diseño para satisfacer esas necesidades:

- Cerdas cónicas 17 veces más delgadas\* que las cerdas convencionales de corte plano
- Limpia 6 veces† más dentro del surco gingival‡



Haga la diferencia y recomiende el  
**Cepillo Colgate® Slim Soft™.**

**Colgate®**

MARCA RECOMENDADA POR ODONTÓLOGOS

[www.colgateprofesional.cl](http://www.colgateprofesional.cl)

\*vs cerdas regulares de puntas redondeadas.

†vs un cepillo regular de cerdas suaves con puntas redondeadas.

Referencia: 1. Estudio de eficacia en acceso sub-gingival. Datos de archivo. Colgate-Palmolive.