

EFFECTIVIDAD DE LA ACTIVACIÓN ULTRASÓNICA CON BIOSPADA EN TUBOS DE DENTINA FRENTE A *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, ESTUDIO IN VITRO.

Autores

Katherine Cárdenas Rodríguez
Daniela Fernanda Ruíz Belalcázar

Posgrado de Endodoncia

Asesor Científico

Gustavo Adolfo Velasco Flechas
Claudia Andrea Cruz Baquero

Asesor Metodológico

Sandra Elizabeth Aguilera Rojas

Asesor Estadístico

Gerardo Ardila Duarte

INTRODUCCIÓN

La presencia de microorganismos en la pulpa dental está directamente asociada con el desarrollo de una patología periapical.

Establecer un control de las infecciones es un objetivo clave de la terapia endodóntica



Generalmente las infecciones del conducto radicular son de naturaleza polimicrobiana

Boutsioukis C, Arias- MT. Present status and future directions – irrigants and irrigation methods. Int Endod J. 2022;55:588–612.

Jr JFS. Present status and future directions : Microbiology of endodontic infections. Int Endod J. 2022;55:512–30.

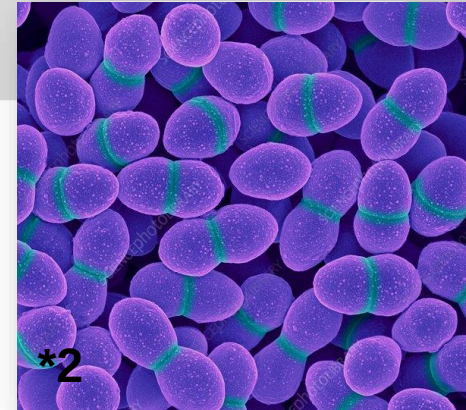
Narayanan LL, Vaishnavi C. Endodontic microbiology. J Conserv Dent. 2010 Oct;13(4):233-9.

*Imagen Tomada de internet: <https://clinicaguisasola.com/flemon-dental-causas-y-tratamiento/>

ANTECEDENTES

Indicador biológico ampliamente
evaluado

Enterococcus faecalis



Crece como
una
biopelícula

Sobrevive en
condiciones
ambientales*

Asociado al
fracaso
endodóntico

**Sin el apoyo sinérgico de
otras bacterias**

**Con suministro
deficiente de nutrientes**

Prevalencia del 24 al 77%

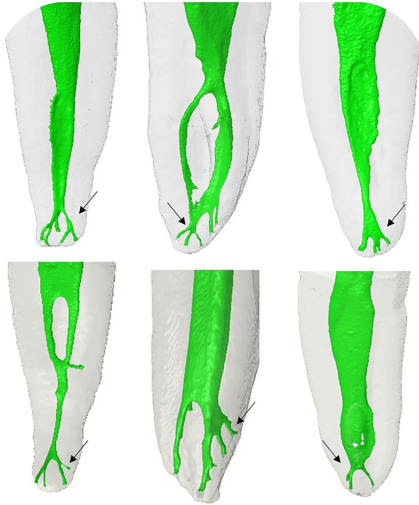
Alghamdi F, Shakir M, The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review, 4. Cureus, 2020;12(3):1–10. Singh H.

Microbiology of Endodontic Infections. J Dent Oral Heal. 2016;2(5):2–5.

Taschieri S, Del Fabbro M, Samaranayake L, Chang JW, Corbella S. Microbial invasion of dentinal tubules: a literature review and a new perspective. J Investig Clin Dent. 2014 Aug;5(3):163-70

*Tomada de <https://www.sciencephoto.com/media/798892/view/enterococcus-faecalis-coccus-prokaryote-sem>

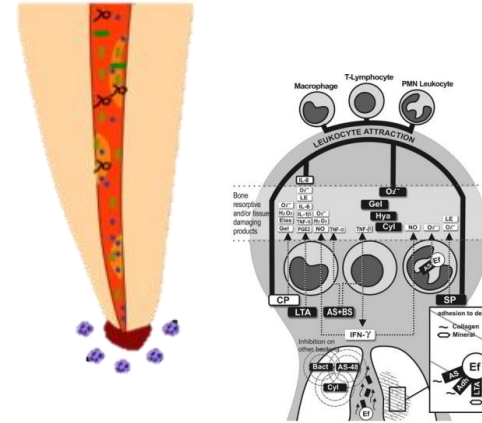
ANTECEDENTES



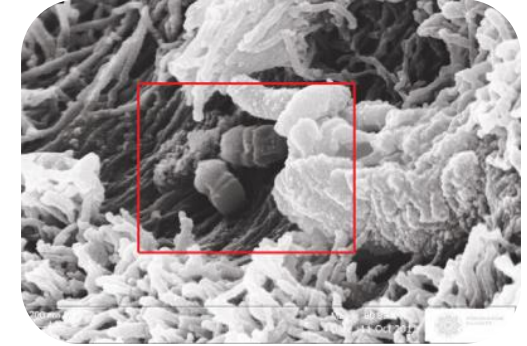
Variabilidad anatómica



Limitaciones de la preparación mecánica



Persistencia de microorganismos por Factores de virulencia



Invasión bacteriana en túbulos dentinales

La desinfección del sistema de conductos radiculares es un gran desafío.

Tabassum S, Khan FR. Failure of endodontic treatment: The usual suspects. Eur J Dent. 2016;10(1):144–7.

Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2019 May 1;24(3):e364-e372

*Tomada de: Sousa-neto MD De. Root canal preparation using micro-computed tomography analysis : a literature review. Brazil Oral Res. 2018;32:20-43.

*Tomada de: <https://www.zendental.es/ventajas-de-la-endodoncia-mecanizada/>

*Tomada de: Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of Enterococcus faecalis: relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2004 Sep 1;15(5):308-20.

*Tomada de: Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. Crit Rev Oral Biol Med. 2002;13(2):171-83.

ANTECEDENTES



ANTECEDENTES

Self aligning
Polymeric
Antimicrobial
Durable
Array

Nombre del Producto	125 ANTIMICROBIAL DE LARGA DURACIÓN DESINFECTA+PROTEGE
	Katan Technologies
	(USA) 1-800-535-5053 INFOTRAC.
	Beach Road, #200.

INFORMACIÓN DE INGREDIENTES

Composición Básica:
3-(Trihydroxysilyl)propyltrimethoxysilane

DATOS FÍSICOS

Propiedades Físicas

Estado físico:
Apariencia:
Olor:
Solubilidad:
pH:
Gravedad específica:
% Bioactivo

MAQUETADO

P

S.P.A.D.A.® HA DEMOSTRADO SER SUPERIOR EN LOS ASPECTOS CLAVES FRENTE A LOS DEMÁS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN Y PROTECCIÓN

TECNOLOGÍA	S.P.A.D.A.®	METALES PESADOS	TRICLOSÁN	FENOLES	ALCOHOL	CLORO	AGENTES OXIDANTES
toxicidad	muy baja (1)	alta	preocupación crecientemente	alta	media	media	variable
reducción de olor	si	si	si	si	no	si (2)	si
durabilidad	si	variable	no	no	no	no	no
ecológico	si	no	no	no	no	no	no
previene supermicrobios	si	no	no	no	no	no	no
previene contaminación cruzada	si	posible	posible	posible	posible	posible	posible
basado en agua	si	no	no	no	no	si	si

S.P.A.D.A.® HA DEMOSTRADO SU SUPERIORIDAD

Por su muy baja toxicidad es seguro, reduce los malos olores y es un antimicrobiano DURABLE, ecológico, capaz de prevenir la contaminación cruzada y la formación de super-microbios.

PRE-PAK

Garrafa por 1 L y 5 L

Botella por 50, 60, mL

Envase de 50, 60, 200, 220, 400 mL

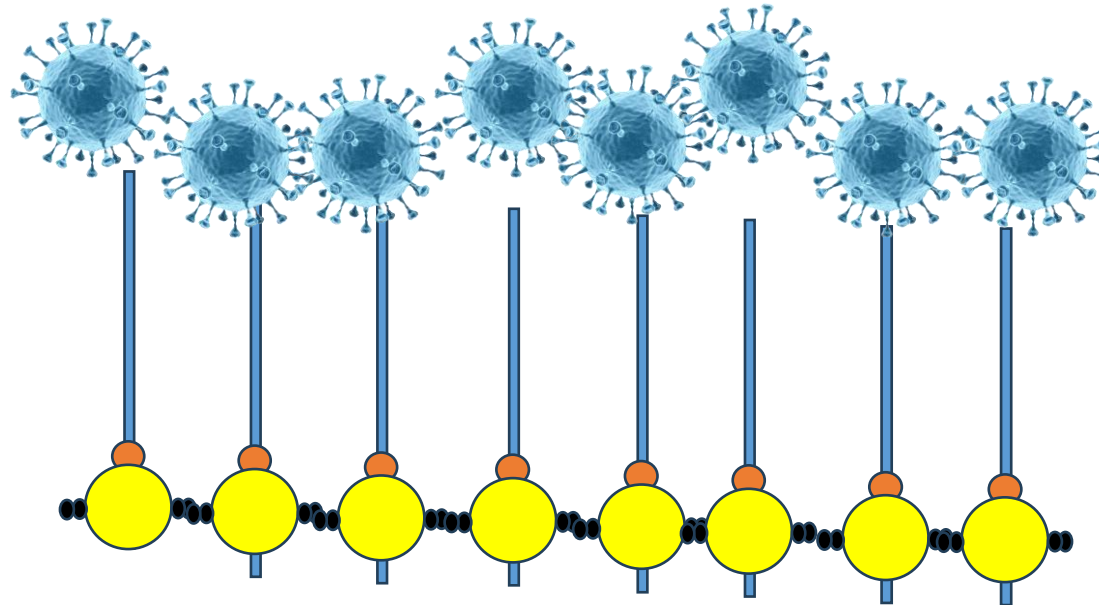
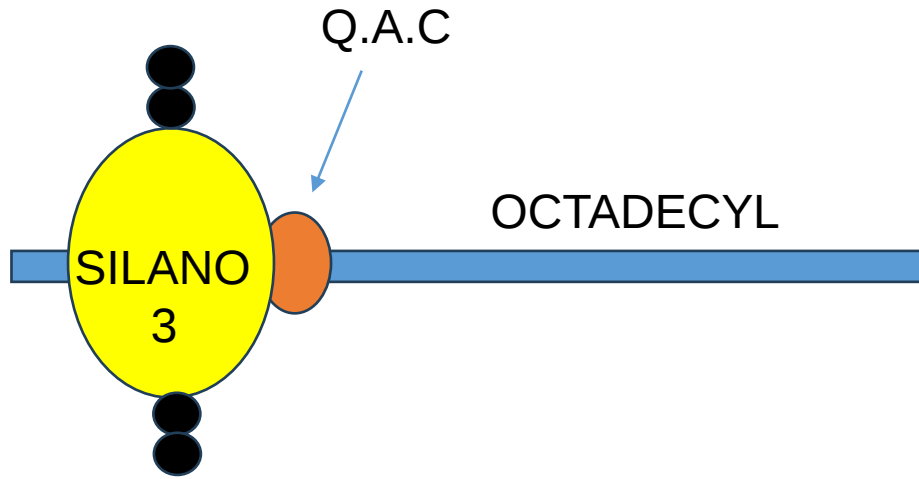
Spray 80, 100, 160, 200, 220, 400 mL

BIOSPADA



(1) 5 veces menos tóxico que el café.
(2) Olor característico del cloro.

ANTECEDENTES



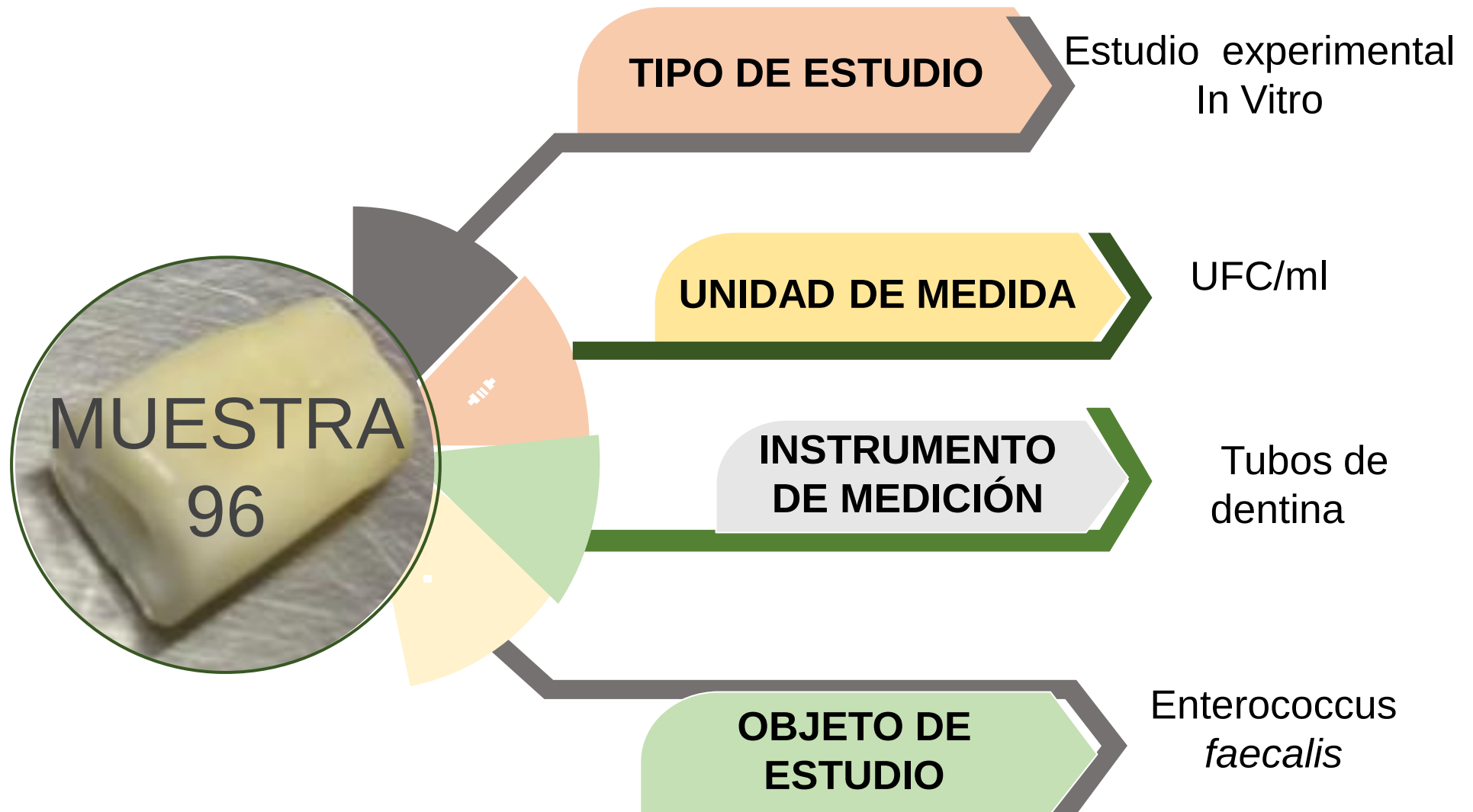
OBJETIVO GENERAL

Comparar la efectividad de Biospada 60 y el Hipoclorito de sodio al 5,25% activados con ultrasonido en la desinfección de tubos de dentina infectados con *Enterococcus faecalis*.

HIPOTESIS NULA

No Existe diferencia entre la efectividad de Biospada 60 y el Hipoclorito de sodio al 5,25% activados por ultrasonido en la desinfección de tubos de dentina infectados por una cepa *Enterococcus faecalis*

MATERIALES Y MÉTODOS



PROCEDIMIENTO

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO

1

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA DONACIÓN DE DIENTES NATURALES PARA ESTUDIO

La Facultad de Odontología de INSTITUTO UNIVERSITARIO COLEGIO DE COLOMBIA (UNICOC), de la educación necesaria para diagnosticar y tratar enfermedades de la boca y los dientes. Realiza investigaciones que se publican en revistas científicas, se presentan en congresos y cursos a los alumnos de la Facultad. Para de las investigaciones que se realizan, utilizan los dientes que se obtienen por indicación del odontólogo y/o especialista porque el diente no se puede mantener en boca.

A través de este documento, queremos solicitar la donación de su o sus dientes extraídos para utilizarlos en educación e investigación.

Con el diente, que usted desea donar.

1. **Estudios Histopatológicos:** Se refiere a los estudios que detallan las características del diente cuando es visto con un microscopio. Se puede investigar sobre la parte dura del diente (esmalte, dentina y cemento), como también sobre el nervio (pulpa dental) del diente.

2. **Estudios de Biomateriales:** Se refiere al estudio de los materiales utilizados para realizar las obturaciones e restauración y rehabilitación de los dientes.

3. **Estudios de caries:** Estudios acerca del origen y efectos de la caries en la estructura del diente.

4. **Estudios de Biología celular:** Son estudios que investigan las células que componen el diente y la pulpa dental.

Si usted NO desea que se utilice su diente o dientes para algún tipo de estudio en especial o para ningún tipo de estudio, lo puede indicar y su decisión será respetada.

Si usted SI desea donar su o sus dientes para investigación, se pueden almacenar por un tiempo indefinido. La donación del diente o los dientes será anónima, es decir, no se podrá identificar de quien es el o los dientes. A su mismo, no se pagará ni se darán incentivos por el o los dientes que sean donados para investigación.

Toda investigación que se realice contará con la revisión del Comité de Ética de Investigación Odontológica de UNICOC Facultad de Odontología, que se encarga de revisar todas las peticiones de investigación que se realizan con tejidos de seres humanos o animales y se preocupa por que se protejan los derechos de quienes participan en las investigaciones.

Marque con X el cuadro que corresponde:

☐ NO deseo donar mis(í) diente(s) a quien sea según documentado
☐ SI deseo donar mis(í) diente(s) para educación e investigación

He leído la información o se me ha leído. He tenido la oportunidad de hacer preguntas las cuales han sido contestadas satisfactoriamente. Consentido de manera voluntaria donar mi diente o mis dientes de la manera y para los propósitos indicados anteriormente.

Nombre del paciente: _____ Firma del paciente o accidente y documento: _____

Nombre de dientes donados: _____ Firma y sello profesional que realiza la extracción: _____

Fecha y lugar: _____

2



3



4



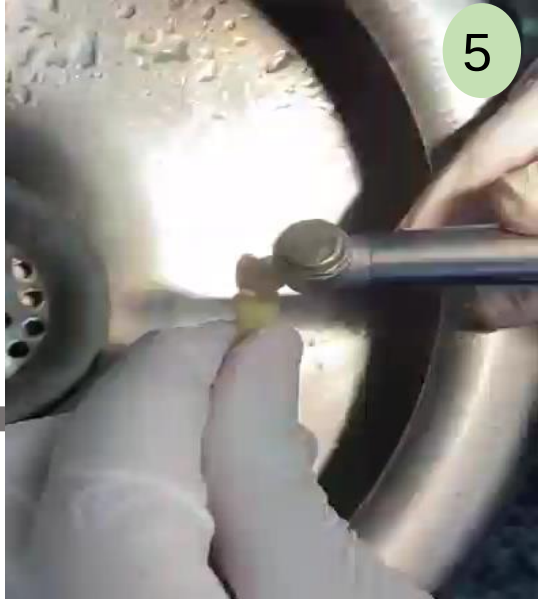
7



6



5



PREPARACIÓN DEL TUBO DE DENTINA

PREPARACIÓN DEL TUBO DE DENTINA

8



9



10



11

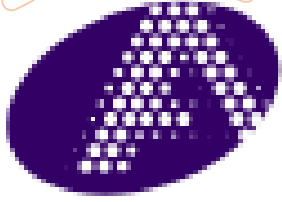
Addy y Mostafa

El agua destilada no cambia las propiedades físicas de la dentina



PREPARACIÓN DEL CULTIVO

1

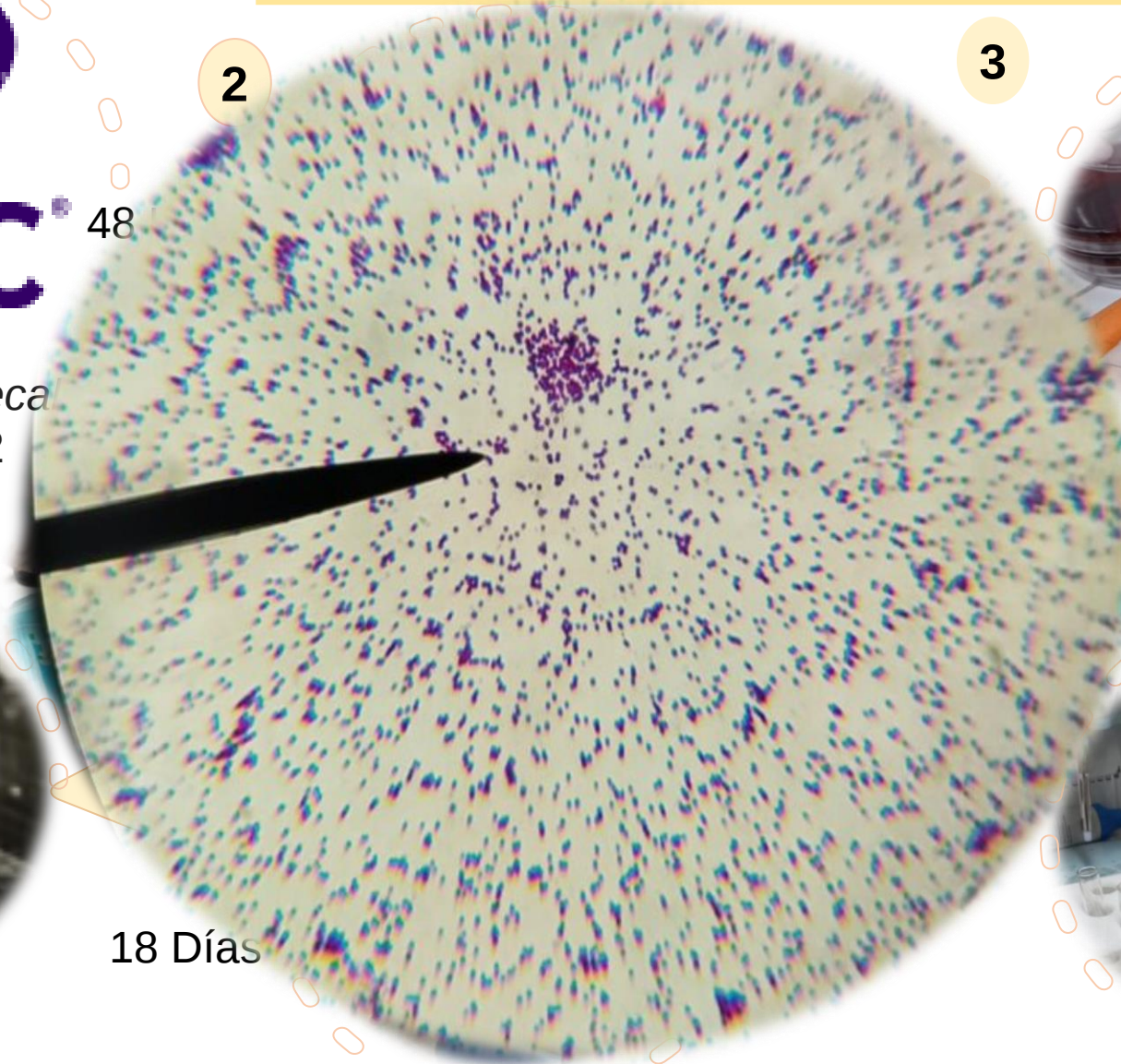


ATCC

48

Enterococcus faecalis
Cepa 29212

2



18 Días

3



rebro
)



0,5



6



PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN

GRUPO A: n= 24

irrigados con 3 ml de Biospada 60, PUI 3 ciclos de 20 segundos, 1 ml del irrigante dispensado por cada ciclo

GRUPO B: n= 24

irrigados con 3ml de NaOCl 5,25%, PUI 3 ciclos de 20 segundos, 1 ml del irrigante dispensado por cada ciclo.

Sistemas de modelo de biopelícula experimental *in vitro*

MUESTRA
96

GRUPO C: n= 24

irrigados con 3 ml de NaOCl 5.25%, PUI 3 ciclos + 1ml del irrigante por ciclo, luego 3 ml de solución salina + PUI 1 ciclo, Biospada 60+ PUI 3 ciclos+ 1ml del irrigante por ciclo.

GRUPO D: n= 24

tubos de dentina que se infectaron con la cepa *E. faecalis* durante 18 días y no se les aplicó ningún irrigante

PUI= Irrigación Ultrasónica pasiva

PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN

Punta
De
irrigación ED4



Ultrasonido
D6
Plus



Takahashi M, Honzawa T, Tominaga R, Aoyagi H. Analysis of the influence of flame sterilization included in sampling operations on shake-flask cultures of microorganisms. Sci Rep. 2020 Jun;10(1):10385.

Richardson PS. Review: Flame sterilization. Int J food Sci Technol. 1987;22:3–14.

PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN

GRUPO A
N=24

1



2



3



3 Ciclos



PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN

GRUPO B
N=24



1



2



3



3 Ciclos



PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN



GRUPO C
N=24

3 Ciclos



1

2

3



3

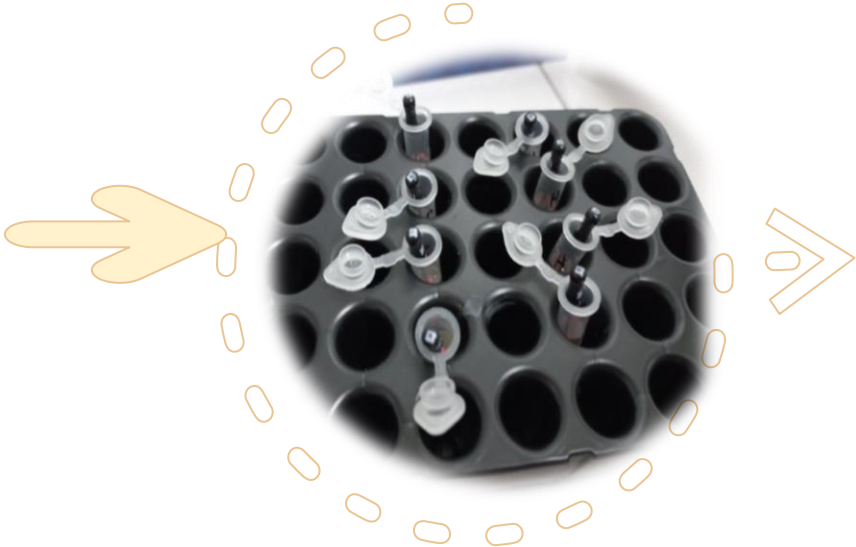
2

1



EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO

1



1 Minuto

2



50 μ l

3



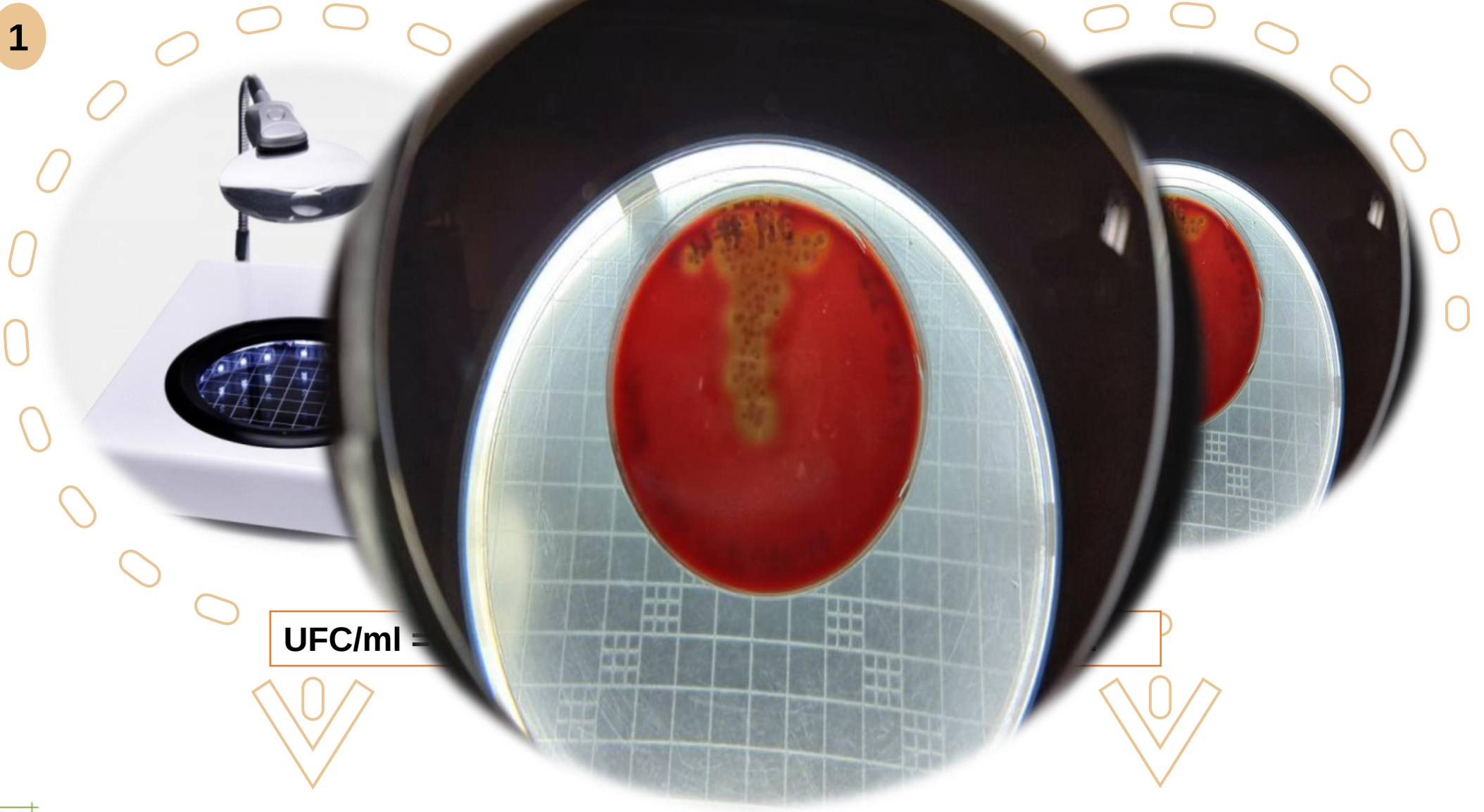
48 horas

4



EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO

1



PREPARACION DE LA MUESTRA SEM



1

Fijación y
deshidratación



Secador
de punto
crítico

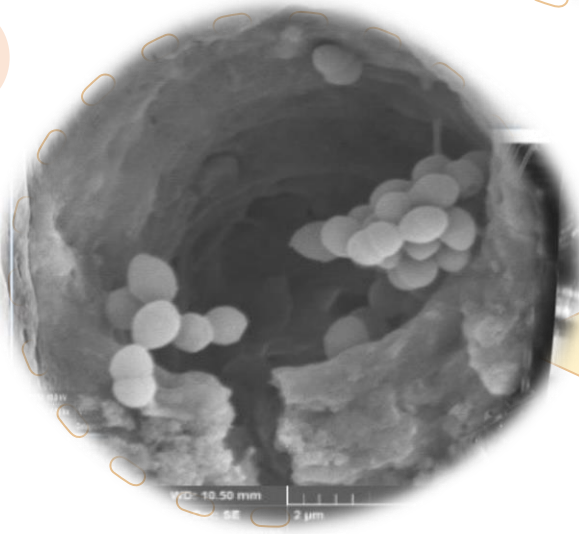
2

3



LYRA3 TESCAN

4





Software libre Real Statistics versión 9.1

**Shapiro
Wilk**

**Kruskal-
Wallis**

**POST HOC
Nemenyi**

RESULTADOS



CONTEO UFC				
DIENTE	GRUPO A: BIOSPADA 60 (UFC/mL)	GRUPO B: HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% (UFC/mL)	GRUPO C: BIOSPADA 60 + HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% COMBINADO (UFC/mL)	GRUPO D: CONTROL (UFC/mL)
1	0,0	200.000,0	0,0	39.600.000,0
2	200.000,0	0,0	0,0	10.800.000,0
3	0,0	0,0	0,0	22.400.000,0
4	0,0	0,0	0,0	7.200.000,0
5	400.000,0	0,0	0,0	26.400.000,0
6	0,0	200.000,0	0,0	42.800.000,0
7	400.000,0	0,0	0,0	23.600.000,0
8	800.000,0	0,0	0,0	37.600.000,0
9	0,0	0,0	0,0	29.200.000,0
10	0,0	0,0	0,0	28.000.000,0
11	0,0	200.000,0	0,0	38.800.000,0
12	200.000,0	0,0	0,0	16.800.000,0
13	200.000,0	0,0	400.000,0	18.200.000,0
14	400.000,0	0,0	0,0	12.400.000,0
15	0,0	0,0	0,0	14.200.000,0
16	600.000,0	0,0	0,0	17.600.000,0
17	0,0	200.000,0	0,0	31.000.000,0
18	0,0	0,0	0,0	13.200.000,0
19	200.000,0	0,0	0,0	9.000.000,0
20	200.000,0	0,0	0,0	800.000,0
21	0,0	0,0	0,0	600.000,0
22	1.200.000,0	0,0	0,0	3.600.000,0
23	200.000,0	0,0	0,0	4.000.000,0
24	1.000.000,0	0,0	0,0	2.000.000,0
TOTAL	6.000.000,0	800.000,0	400.000,0	449.800.000,0
Recuento de Unidades Formadoras de Colonias UFC de Enterococcus faecalis después de la irrigación con Hipoclorito de sodio al 5,25%, Biospada 60 y la combinación de ambos.				

Recuento de Unidades Formadoras de Colonias UFC de Enterococcus faecalis después de la irrigación con Hipoclorito de sodio al 5,25%, Biospada 60 y la combinación de ambos.

RESULTADOS

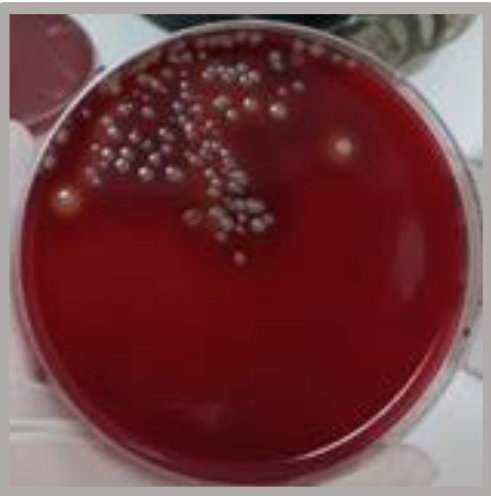
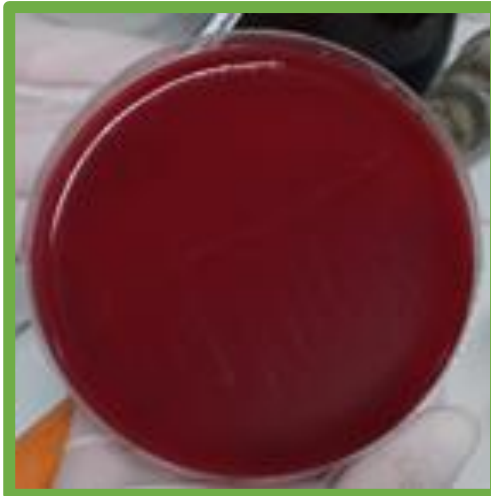
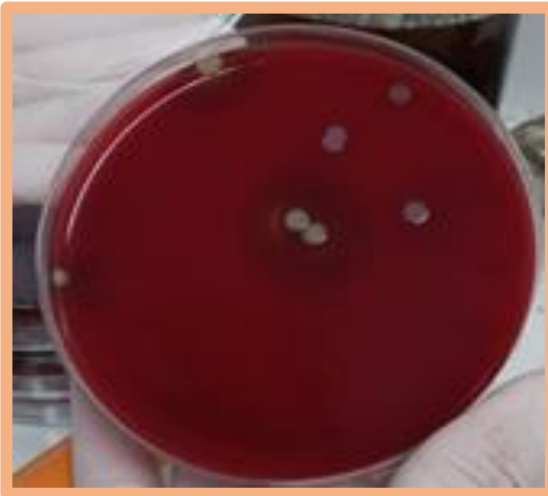


TABLA 1: ANALISIS DESCRIPTIVO	n	Mean	Standard Deviation	Median	Maximum	Minimum	IQR	SWp-value	Kruskal- Wallis Test
GRUPO A	24	250.000,0	340.077	200.000,0	1.200.000,0	0,0	400.000,0	0,002	0,000
GRUPO B	24	33.333,3	76.139	0,0	200.000,0	0,0	0,0	0,001	
GRUPO C	24	16.666,7	81.650	0,0	400.000,0	0,0	0,0	0,000	
GRUPO D	24	18.741.666,7	13.152.679	17.200.000,0	42.800.000,0	600.000,0	19.750.000,0	0,261	

p<0,05

RESULTADOS EN UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS UFC/mL

RESULTADOS

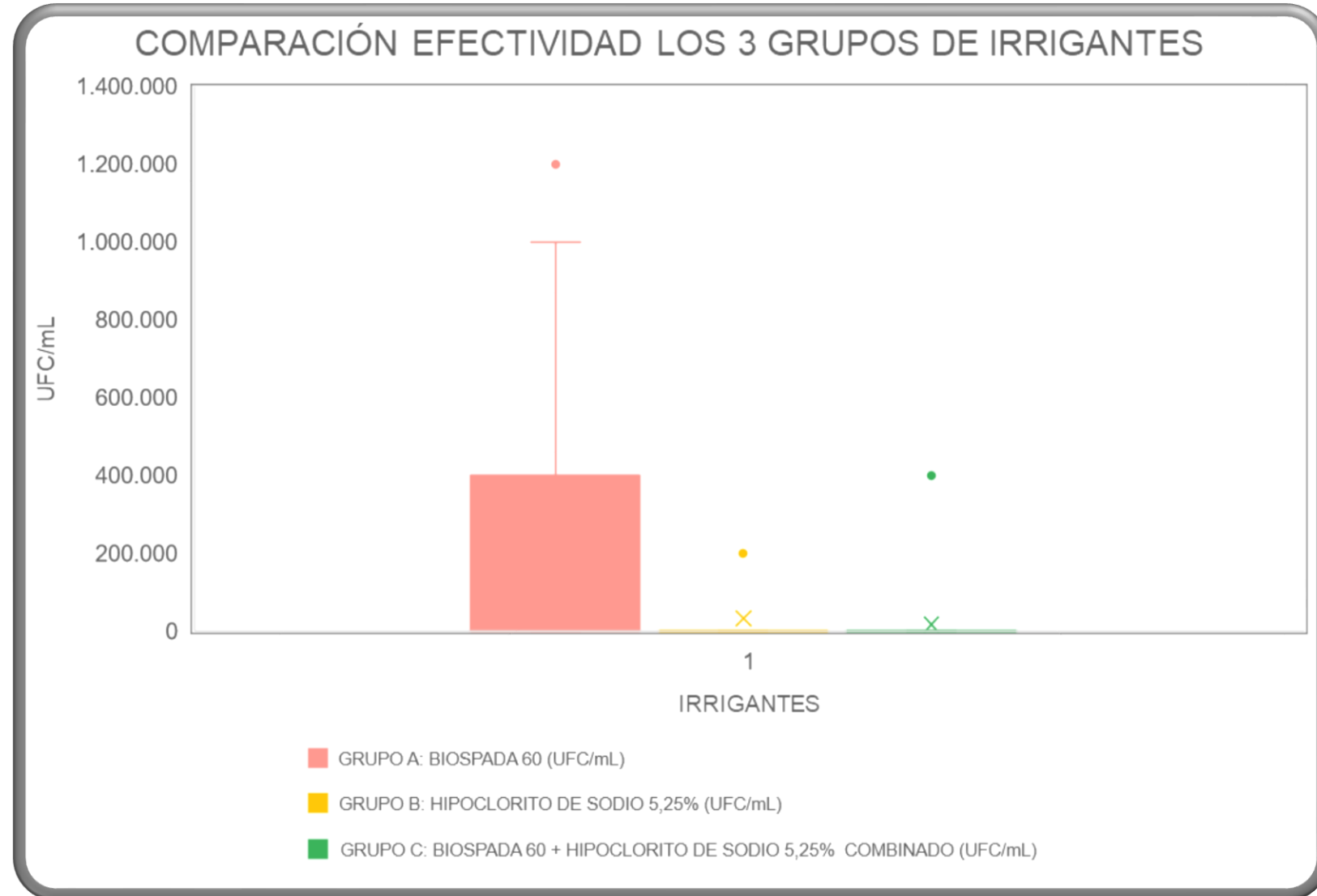
p<0,05

GRUPO 1	GRUPO 2	mean	lower	upper	p-value
GRUPO A	GRUPO D	18.491.666,7	13.521.876,58	23.461.456,8	0,000
GRUPO B	GRUPO D	18.708.333,3	13.738.543,25	23.678.123,4	0,000
GRUPO C	GRUPO D	18.725.000,0	13.755.209,91	23.694.790,1	0,000
GRUPO A	GRUPO B	216.666,7	0,00	5.186.456,8	0,246
GRUPO A	GRUPO C	233.333,3	0,00	5.203.123,4	0,093
GRUPO B	GRUPO C	16.666,7	0,00	4.986.456,8	0,967



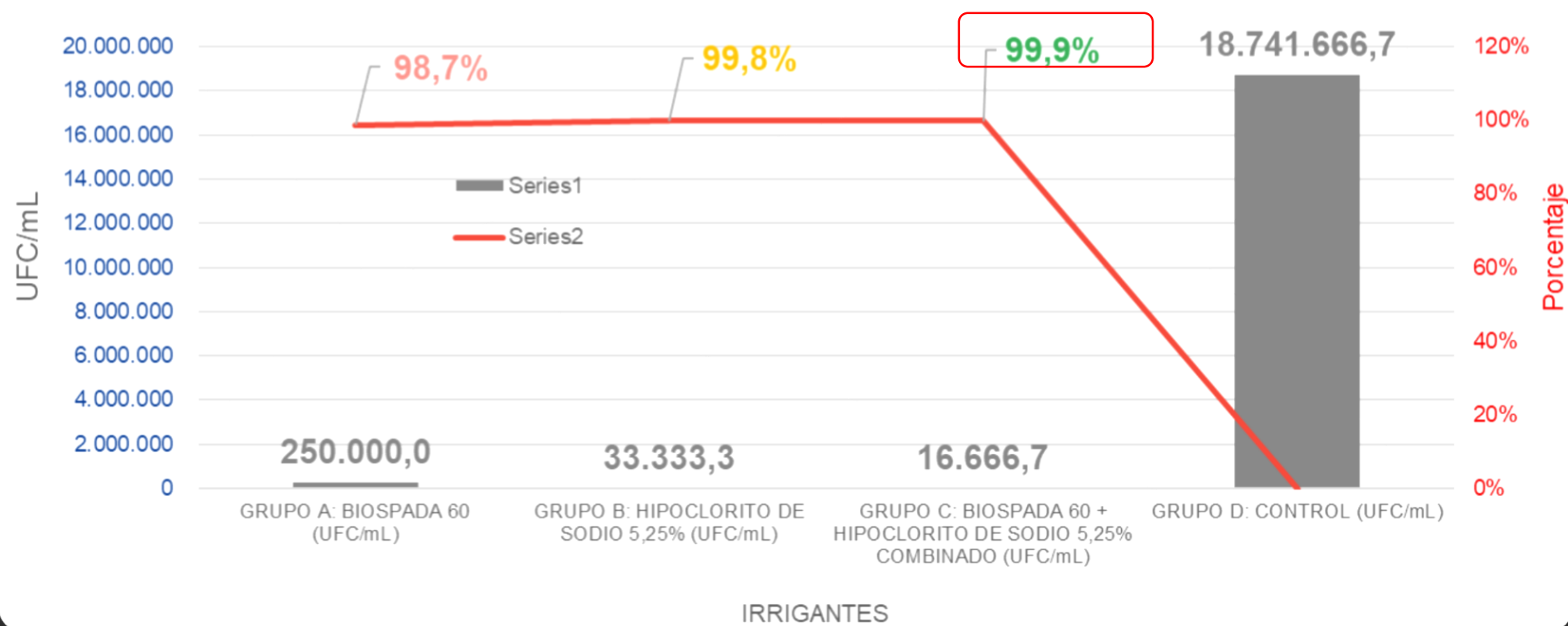
TABLA 2: Prueba de POS HOC Nemenyi

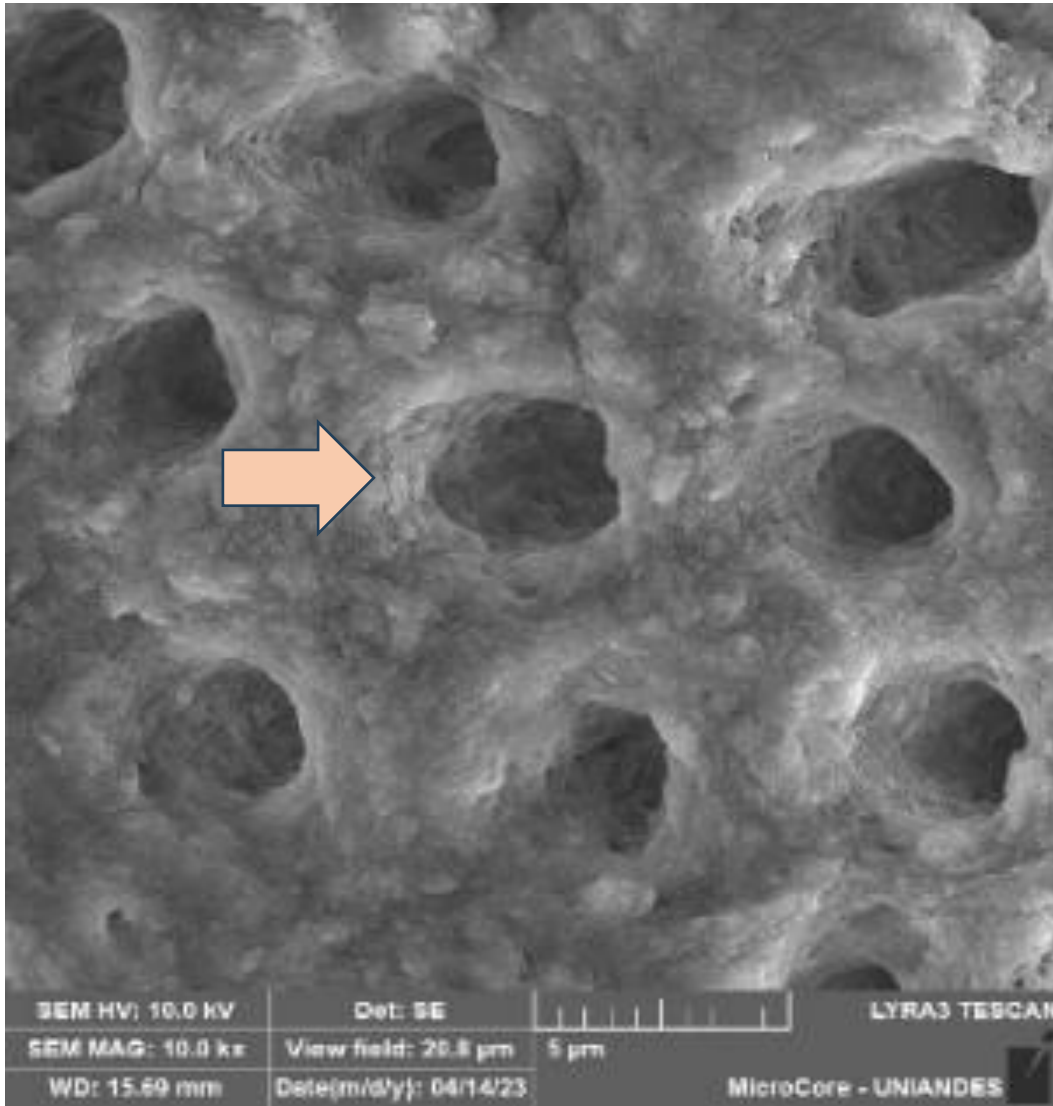
RESULTADOS



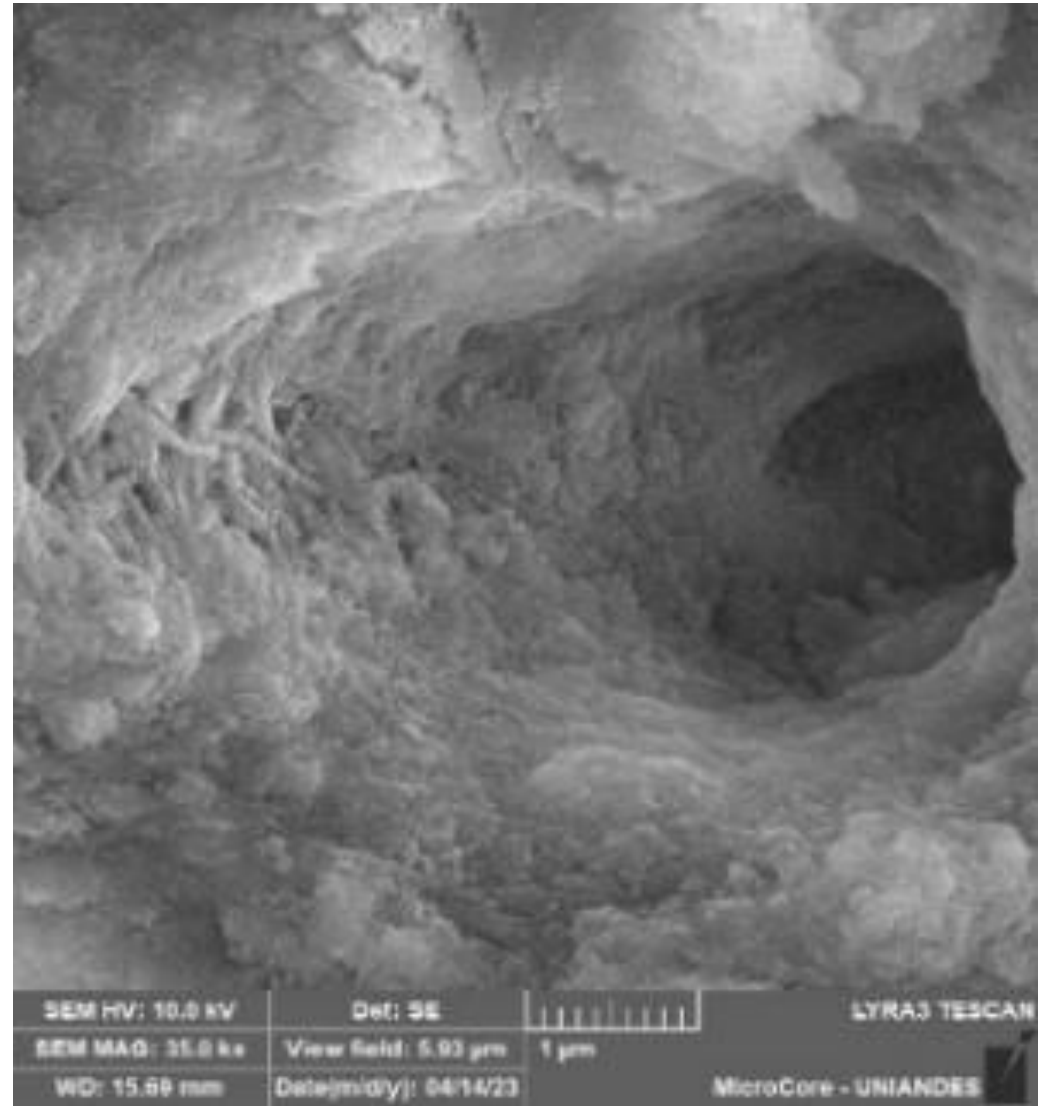
RESULTADOS

RECuento de UFC/ ml y Porcentaje de Efectividad Antimicrobiana Posterior al Tratamiento

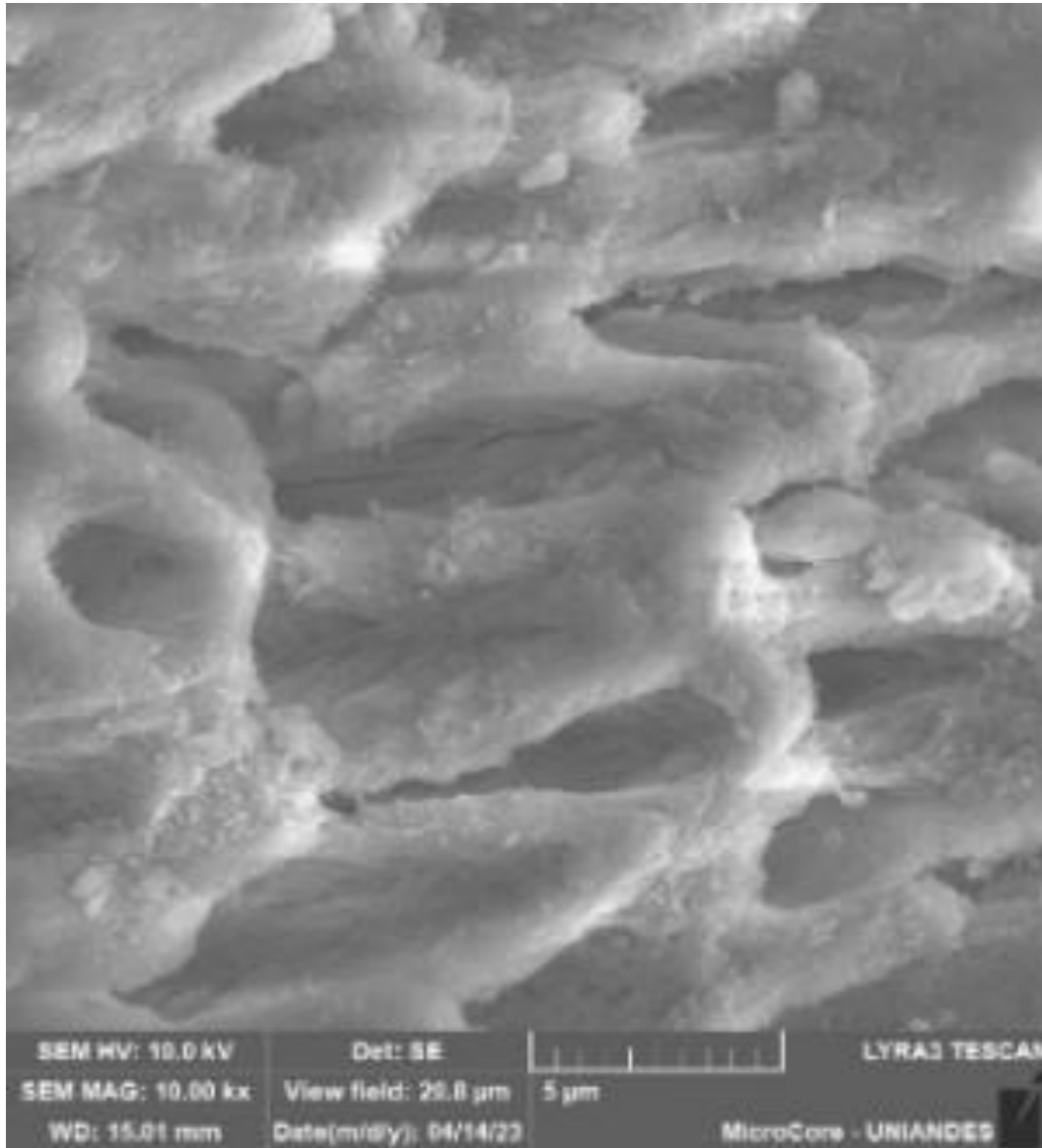




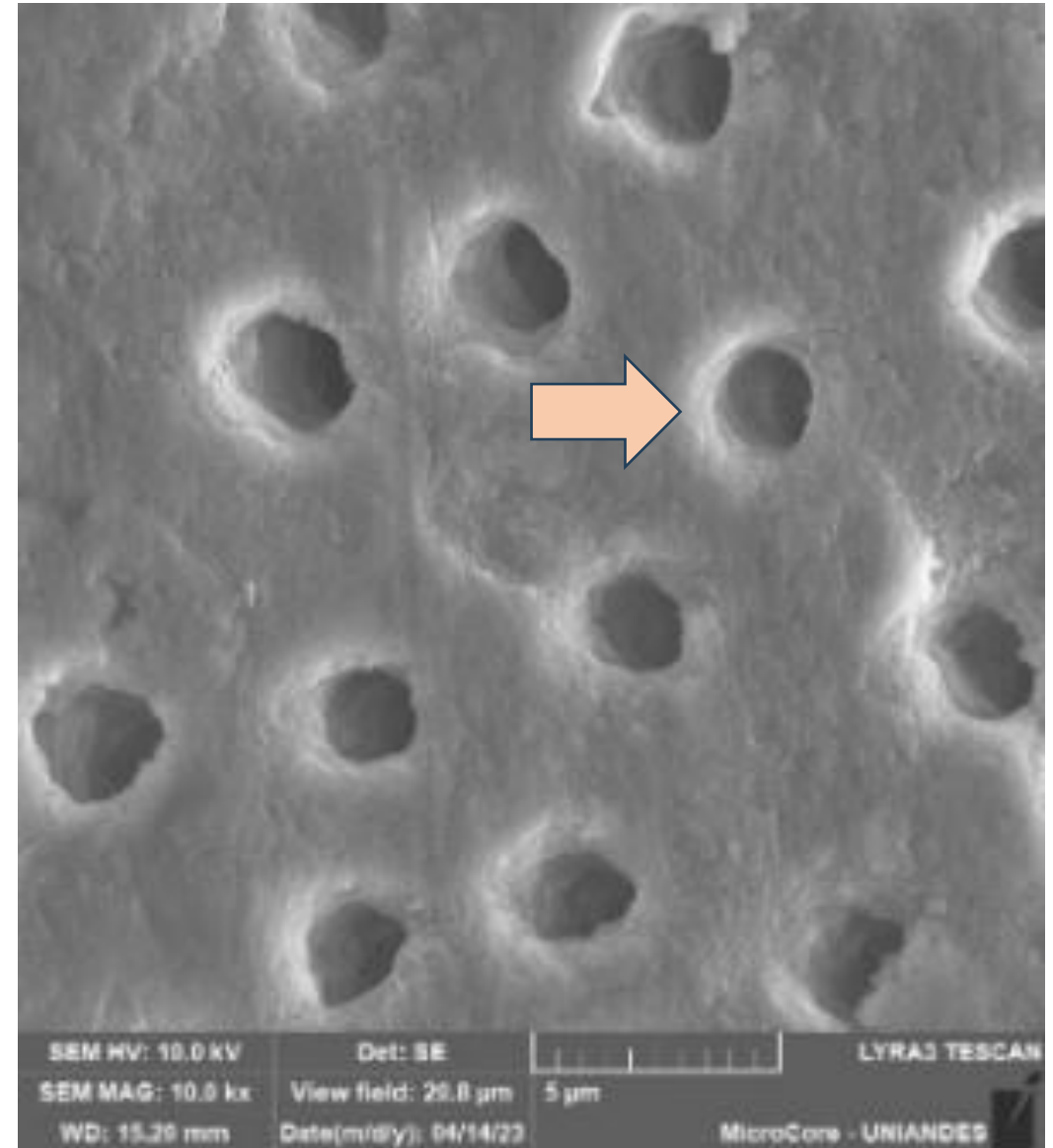
Tercio Apical

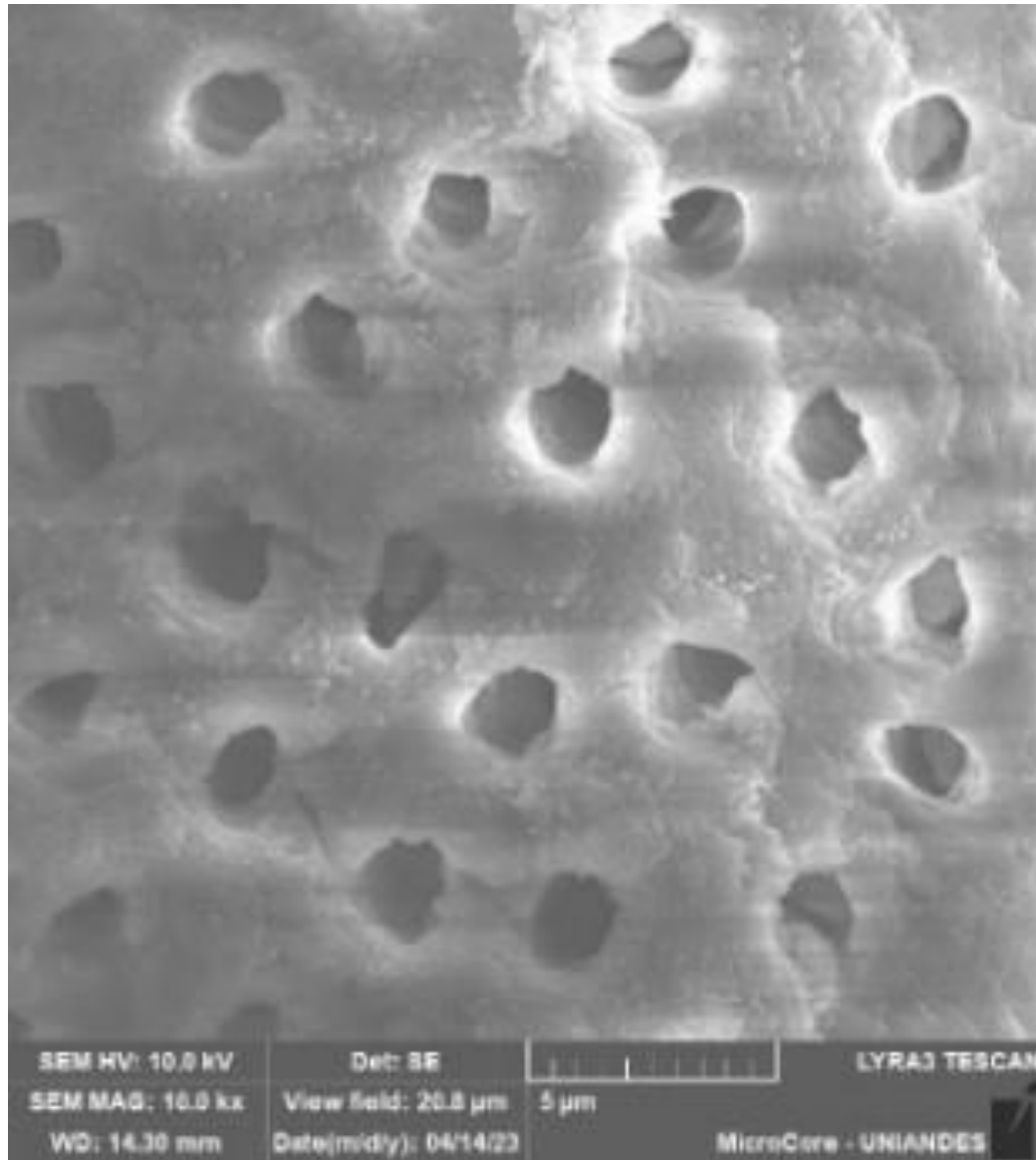


Túbulo dentinal

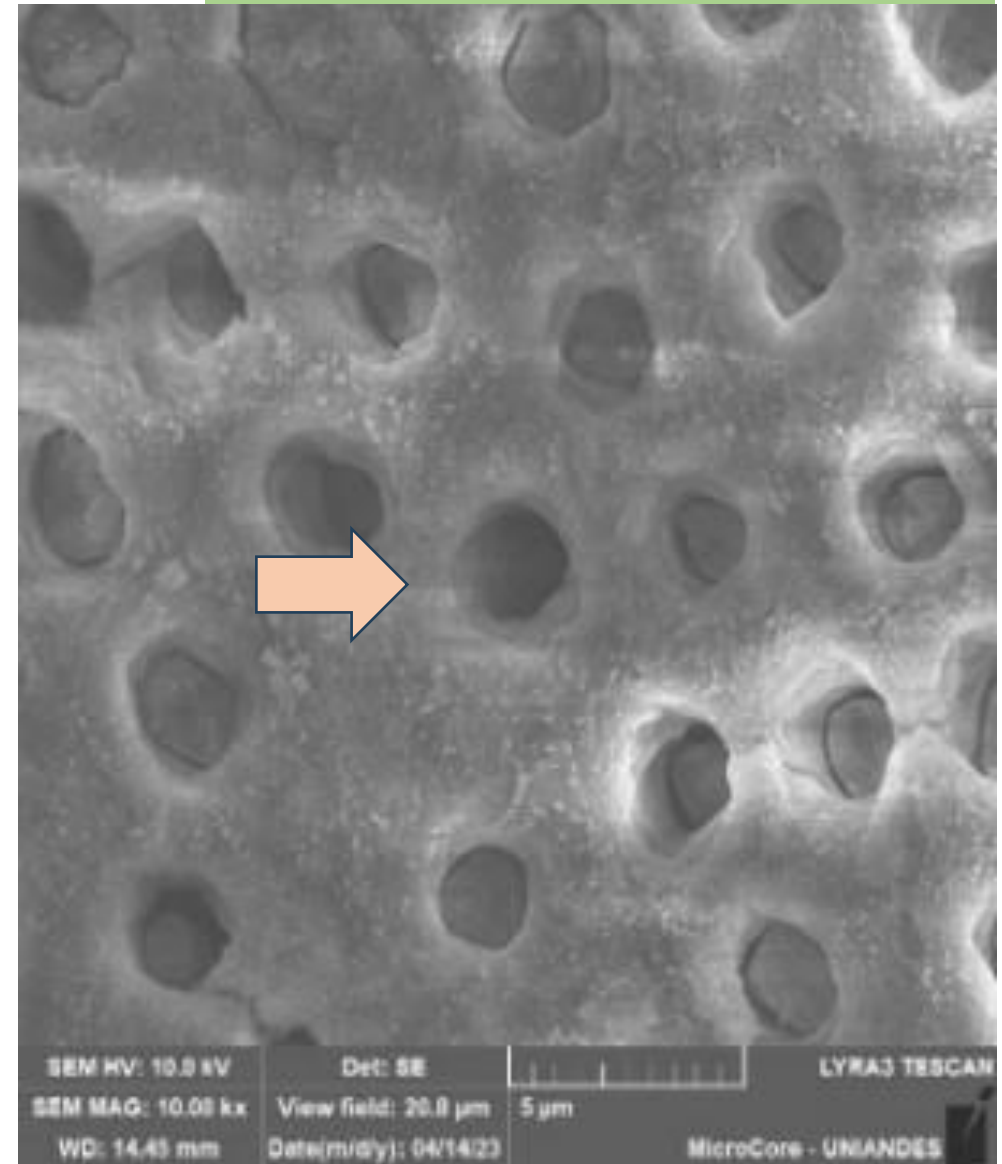


Tercio medio

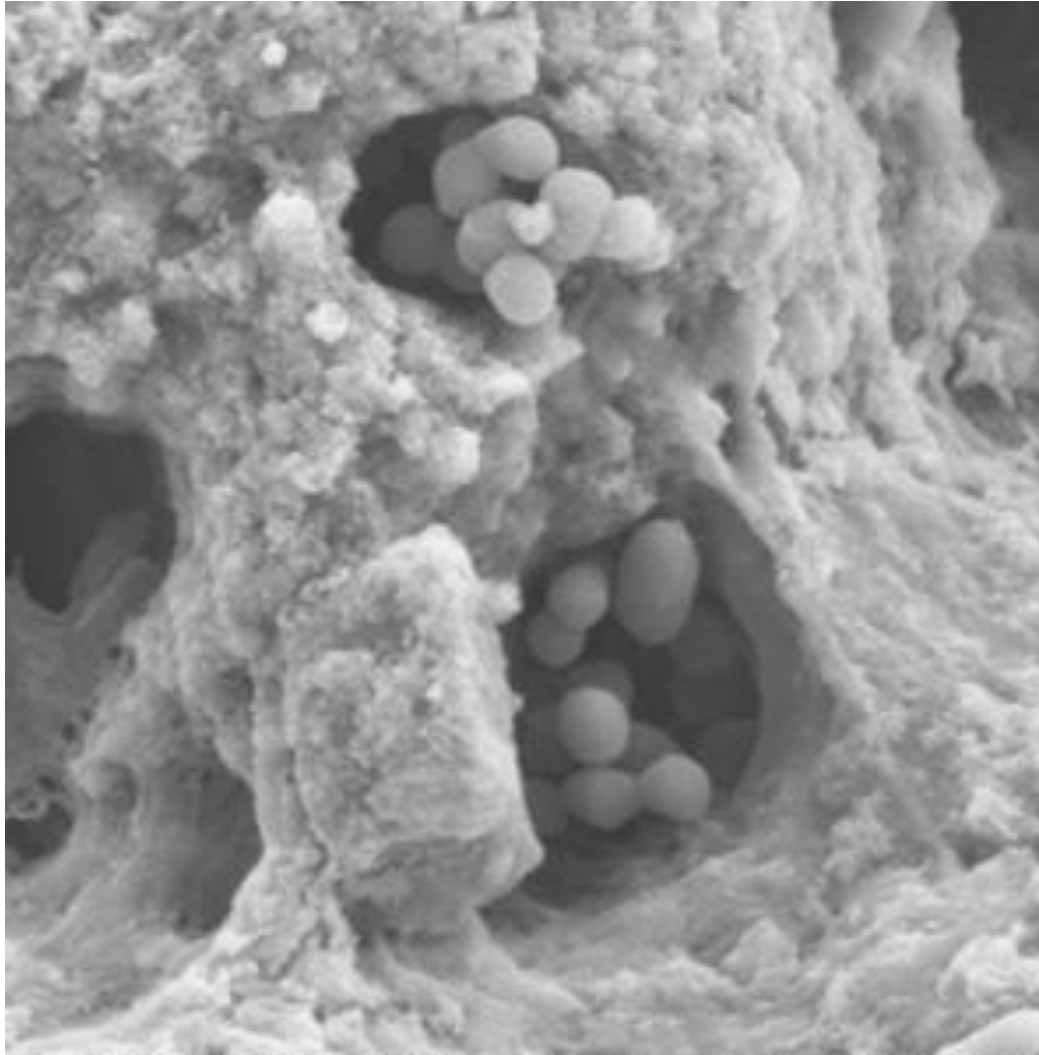




Tercio medio

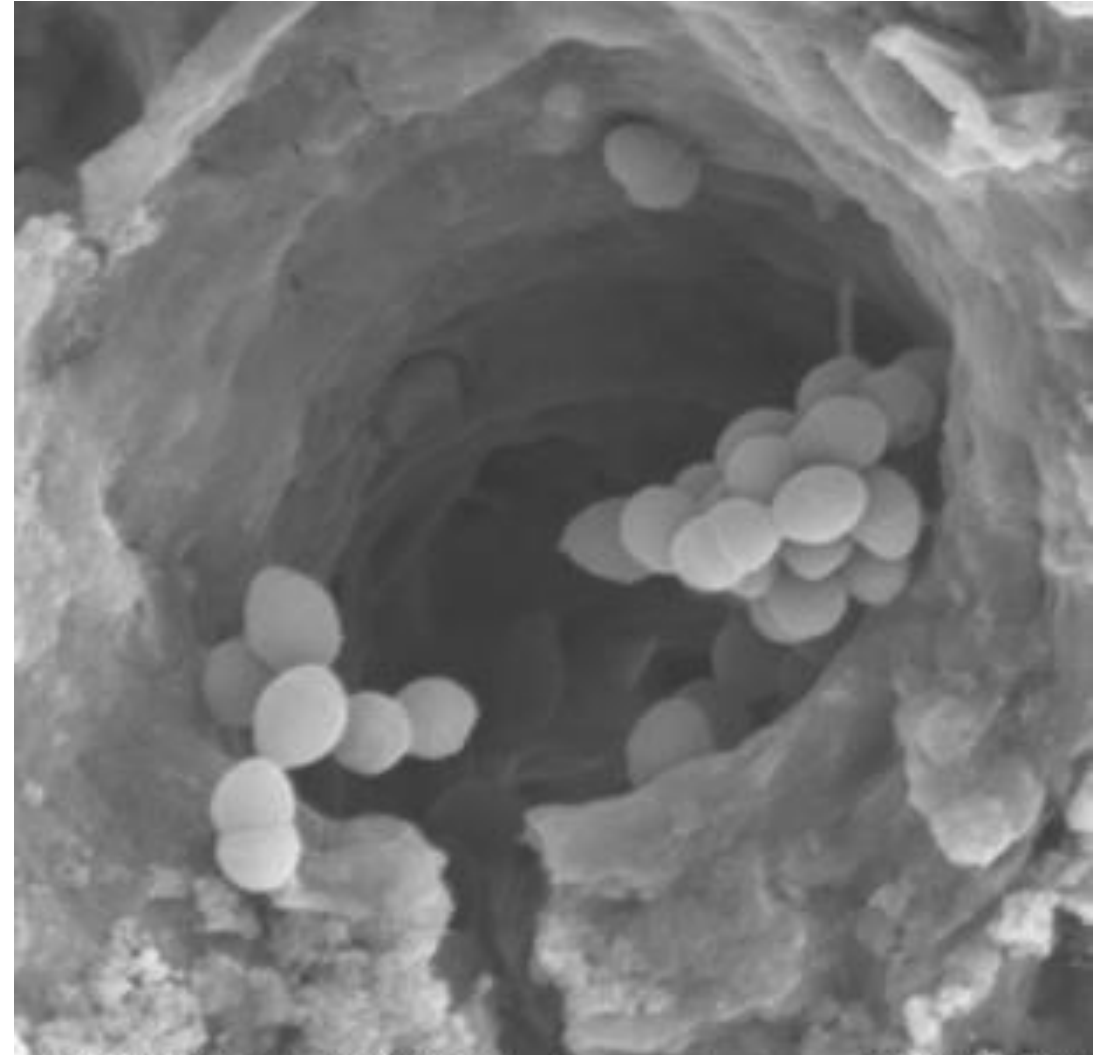


Tercio apical



SEM HV: 5.0 kV WD: 10.14 mm LYRA3 TESCAN
SEM MAG: 20.1 kx Det: SE 2 µm
View field: 7.96 µm Date(m/d/y): 11/22/22 Centro Microscopia-UNIANDES

Tercio apical



SEM HV: 5.0 kV WD: 10.50 mm LYRA3 TESCAN
SEM MAG: 30.7 kx Det: SE 2 µm
View field: 6.76 µm Date(m/d/y): 11/22/22 Centro Microscopia-UNIANDES

Túbulo dentinal

**George S & Kishen A.
2007**

Enterococcus faecalis es el microorganismo experimental más utilizado en los sistemas modelo de biopelículas endodónticas

Se han descrito modelos de biopelículas para el estudio de estrategias antimicrobianas



Estrela et al 2009

Permitió colonización satisfactoria de *E. faecalis*

DISCUSIÓN

Cwikla et al
2005

- Utilizaron tubos de dentina **5mm**
- Misma cepa
- Infección +

- CaOH
- CaOH + Yodopovidona+ Metapex

- 10mm
- Infección +
- Biopelícula en el túbulo dentinal

Modelo experimental

Josic et al 2022

3 2

Cultivo

Biopelícula

Remoción

Monoespecie
Multiespecie

1-30 días

Irrigantes
Activación

Cwikla SJ, Bélanger M, Giguère S, Progulski-Fox A, Vertucci FJ. Dentine tubule disinfection using three calcium hydroxide formulations. J Endod. 2005 Jan;31(1):50-2.

Josic U, Mazzitelli C, Maravic T, Fidler A, Breschi L, Mazzoni A. Biofilm in Endodontics: In Vitro Cultivation Possibilities, Sonic-, Ultrasonic- and Laser-Assisted Removal Techniques and Evaluation of the Cleaning Efficacy. Polymers (Basel). 2022 Mar 25;14(7):1334

DISCUSIÓN

Efectividad antibacteriana



**AMONIO
CUATERNARIO**

Desinfectante
industrial

Desinfectante de
cavidades operatoria
dental

Gotas oftálmicas

Medicamento
intraconducto

Enjuagues bucales

Compuesto de
Resinas de
fotocurado

**MODIFICACIONES
CON
NANOPARTICULAS**

Lamia Samee Mockeem, Abdulrahman Balhaddad, Isadora Martini, Fabricio Mezzomo, Mary Mero. Benzyltrimethylammonium Chloride Doped Dental Adhesive: Impact on Core's Properties, Biosafety, and Antibacterial/Bonding Performance after Aging 2022. J Funct Biomater.13:190

Ranjeet Bapat, Abhishek Parolia, Tanay V. Chubal, Ho Jan Yang, Prashant Keshawaarni, Khoo Phaik, Seow Liang, Umer Daood. Recent update on applications of quaternary ammonium Silane as an antibacterial biomaterial: A novel drug delivery approach in dentistry. Front Microbiol.13:1;22

DISCUSIÓN

Efectividad antibacteriana

A la fecha no hay reportes en la literatura sobre la efectividad antibacteriana de **Biospada** en Endodoncia

Nair et al 2022

NaOCL

Barro dentinario – Efectividad antimicrobiana

Misma cepa – Tubos de dentina curvos 16mm
Endo-Vac vs PUI vs Laser vs terapia fotodinámica

Barro dentinario – Efectividad antimicrobiana
Diferencia estadística no significativa

Nuestros resultados no se pueden comparar con estudios anteriores.

CONCLUSIONES

1

Biospada 60 tuvo la misma efectividad antimicrobiana que Hipoclorito de sodio 5,25% en la eliminación de *E. faecalis* en el modelo propuesto

2

La combinación de Biospada 60 + Hipoclorito de sodio al 5,25% obtuvo menor UFC/ml, por lo que podría ser considerada como coadyuvante de la desinfección del conducto radicular.

3

La irrigación ultrasónica pasiva potencializó la reducción bacteriana de *E. faecalis* en todos los irrigantes.

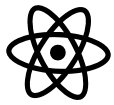
RECOMENDACIONES

Tomar muestra con la lima dentro del conducto radicular durante 3 momentos: Antes, después y 48 horas luego del protocolo de irrigación.

- Propiedades físicas y químicas
- Efecto sobre barro dentinario
- Disolución de tejido y efectos sobre la dentina

Realizar investigaciones futuras en modelo animal o celular para evaluar la citotoxicidad de Biospada 60.

AGRADECIMIENTOS

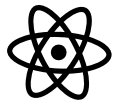


UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE
CUNDINAMARCA

Dra Claudia Andrea Cruz

Dra Paola Andrea Santos

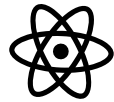
Coordinadoras de Laboratorio REMA



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

Juan Camilo Orozco Cardona.

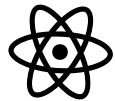
Centro de Microscopía Microcore



UNIVERSIDAD JAVERIANA

Dra Luz Dary Escobar

Coordinadora de Laboratorio de
Microbiología



INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA
COLEGIOS DE COLOMBIA

Dra Ana Karina Manjarrés

Dr Cesar Penagos

Especialistas en Endodoncia



GRACIAS

- Cárdenas K, Ruiz D.

