

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 420 231**

21 Número de solicitud: 201330953

51 Int. Cl.:

C08L 63/00 (2006.01)

A61K 6/08 (2006.01)

C08K 5/19 (2006.01)

C08K 5/31 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

25.06.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

22.08.2013

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE GRANADA (100.0%)
HOSPITAL REAL. C/ HOSPICIO S/N
18071 GRANADA ES**

72 Inventor/es:

**FERRER LUQUE, Carmen María;
BACA GARCÍA, Pilar;
ARIAS MOLIZ, María Teresa;
BAILÓN SÁNCHEZ, Estela y
RUIZ LINARES, Matilde**

54 Título: **COMPOSICIÓN PARA EL SELLADO ENDODÓNTICO CON EFECTO ANTIBACTERIANO**

57 Resumen:

Composición para el sellado endodóntico con efecto antibacteriano.

La presente invención describe una composición para el sellado endodóntico con actividad antibacteriana y con capacidad para impedir la formación de películas o biofilms bacterianos tras el proceso de sellado en tratamientos de endodoncia. Comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora uno o más antisépticos catiónicos de forma que, sin afectar a las propiedades físico-químicas del sellador, le confieren, en condiciones fisiológicas, propiedades inhibitoras de formación de biopelículas. Por otro lado, la adición de estos antisépticos al sellador le confiere actividad bactericida. Estas características antimicrobianas, particularmente frente a *E. faecalis* se mantienen en el tiempo.

DESCRIPCIÓN

COMPOSICIÓN PARA EL SELLADO ENDODÓNTICO CON EFECTO ANTIBACTERIANO

5

SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención se enmarca en el sector de los productos de uso odontológico. Más concretamente se trata de una composición de cemento sellador con efecto antibacteriano de aplicación en tratamientos endodónticos.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA

El objetivo más importante del tratamiento endodóntico es la eliminación de microorganismos del sistema de conductos radiculares y la prevención de la reinfección. Sin embargo, en la mayoría de los casos, la completa eliminación de bacterias es imposible. [Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK.

15 Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002; 94:658-66].

La utilización de materiales de obturación de conductos radiculares con actividad antibacteriana puede reducir el número de microorganismos remanentes [Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by

20 modified direct contact test against Enterococcus faecalis. J Endod 2009; 35:1051-5],

[Baer J, Maki JS. In vitro evaluation of the antimicrobial effect of three endodontic sealers mixed with amoxicillin. J Endod 2010;36:1170-3.], prevenir la infección recurrente de los conductos y favorecer la curación de los tejidos apicales y periapicales [Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M Bonifácio KC, Ito IY. In

25 vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. J Endod 2000; 26:391-4.].

El Género *Enterococcus* engloba un conjunto de especies morfológicamente semejantes a los estreptococos. Causan infecciones muy diversas y poseen un creciente interés en el caso de los procesos oportunistas. Se asocian en parejas y cadenas cortas y, aunque su hábitat natural es el intestino, se ha podido aislar como microbiota normal en la mucosa bucal y dorso de la lengua y en bolsas periodontales.

Enterococcus faecalis, una de sus especies más comunes, se encuentra frecuentemente en dientes con tratamiento de conductos radiculares, tanto en casos asintomáticos como en los que ha fracasado dicho tratamiento, así como casos de periodontitis apical persistente [Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB.

Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod 2006; 32:93-8]. Esta bacteria penetra en los túbulos dentinarios y crece como biofilm en las paredes de los conductos radiculares incluso en condiciones de déficit de nutrientes lo que hace que su eliminación sea especialmente difícil [George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. J Endod 2005; 31:867-72].

Los cementos selladores endodónticos tienen cierta capacidad antibacteriana inherente dependiendo de su composición química. Existen en el mercado una gran variedad de selladores. La mayor parte se basan en óxido de cinc eugenol, resinas plásticas, hidróxido de calcio y siliconas. AH Plus es un sellador endodóntico basado en epoxi resina que tiene buenas propiedades físicas, adecuada adhesión a dentina, excelente fluidez y estabilidad en solución acuosa. Además, es biocompatible [Neff T, Layman D, Jeansonne BG: In vitro cytotoxicity evaluation of endodontic sealers exposed to heat before assay. J Endod 2002, 28:12.], no es genotóxico [Leyhausen G, Heil J, Reifferscheid G, Waldmann P, Geurtsen W. Genotoxicity and cytotoxicity of the epoxy resin-based root canal sealer AH Plus. J Endod 1999;25:109–13.], tiene buena

tolerancia tisular, capacidad de sellado y estabilidad dimensional a largo plazo [Leonardo MR, da Silva LA, Almeida WA, Utrilla LS. Tissue response to an epoxy resin - based root canal sealer. Endod Dent Traumatol.1999;15:28]. Su capacidad antibacteriana, relacionada con su composición, se reduce en gran medida tras el
5 fraguado [Leonardo MR, L.A. Bezerra da Silva, M.T. Filho, D.S. Santana Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics1999; 88: 221–5.] y es menor que la encontrada para otros selladores [Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M Bonifácio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. J
10 Endod 2000;26:391-4].

Estudios previos han mostrado que AH Plus no es capaz de matar bacterias o inhibir la formación de biopelículas de *E. faecalis* [Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against Enterococcus faecalis. J Endod 2009;35:1051-5] [Baer J, Maki JS. *In vitro* evaluation of
15 the antimicrobial effect of three endodontic sealers mixed with amoxicillin. J Endod 2010;36:1170-3].

Como parte esencial del tratamiento endodóntico, junto a la instrumentación mecánica, es indispensable el uso de soluciones irrigadoras que posean, entre otras propiedades, actividad antimicrobiana. Hipoclorito de sodio es una de ellas, si bien
20 plantea problemas de toxicidad para el periápice, en caso de extrusión accidental, y no tiene actividad antimicrobiana residual. En este sentido, diversos desinfectantes catiónicos han sido probados con éxito como soluciones irrigadoras. Clorhexidina (CHX), es una bisguanida con potente acción antimicrobiana y probada acción residual que se utiliza como solución irrigadora en el tratamiento de conductos radiculares. Se
25 ha informado que es capaz de inactivar la mayoría de los microorganismos resistentes al tratamiento endodóntico en tan solo 15 segundos de contacto [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;97:79–84]. Cetrimida (CTR), es un surfactante catiónico que ha demostrado su capacidad para erradicar *E. faecalis in vitro* [Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of Enterococcus faecalis biofilms by cetrimide and chlorhexidine. *J Endod* 2010;36:87-90.] y *ex vivo* [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. *J Endod* 2011;37:363-6. Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on Enterococcus faecalis-infected root canals. *J Endod* 2011;37:1121-3]. Tanto CHX como CTR son inocuos a las concentraciones de uso en odontología. Otras bisguanidas, como alexidina, u otros detergentes catiónicos como el cloruro de cetilpiridinio, podrían ser en el futuro antisépticos de elección en el ámbito de la endodoncia.

Con el fin de evaluar el efecto antibacteriano de los cementos selladores endodónticos se ha utilizado ampliamente el test de agar difusión (TAD). No obstante, debido a sus limitaciones, actualmente el test de contacto directo (TCD) está considerado como el más idóneo para evaluar la actividad antibacteriana de los materiales odontológicos, incluidos los cementos selladores. Las técnicas para evaluar la inhibición de formación de biopelículas, particularmente de *E. faecalis*, sobre materiales son más recientes y no existe un consenso sobre la más adecuada, si bien existen varias válidas y fiables.

Dado que las bacterias dentro del conducto radicular crecen como biopelículas [Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284:1318–22], especialmente *E. faecalis*, es importante determinar la actividad antibacteriana de materiales capaces de inhibir su

formación. En este sentido, cobra particular interés valorar la actividad antibacteriana y capacidad de inhibir la formación de biopelículas de *E. faecalis* de AH Plus, solo, mezclado con CHX o CTR, y combinado con ambos.

No se conoce ninguna referencia de cementos selladores que impidan por completo la
5 formación de biopelículas ni tengan efecto bactericida, especialmente para *E. faecalis*.

OBJETO DE LA INVENCION

El objeto de la presente invención es una composición para el sellado endodóntico con actividad antibacteriana y con capacidad para impedir la formación de películas o
10 biofilms bacterianos tras el proceso de sellado en tratamientos de endodoncia. Comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora uno o más antisépticos catiónicos de forma que, sin afectar a las propiedades físico-químicas del sellador, le confieren, en condiciones fisiológicas, propiedades antibacterianas e inhibitoras de formación de biopelículas que, además, se mantienen en el tiempo. Por otro lado, la
15 adición de estos antisépticos al sellador le confiere actividad bactericida a corto y largo plazo, erradicando las bacterias e inhibiendo la formación de biopelículas, particularmente a *E. faecalis*.

Normalmente, la incorporación de sustancias extrañas a un cemento sellador puede hacer que este pierda sus propiedades. No obstante, el invento está basado en el
20 sorprendente hallazgo, de que al mezclar el cemento sellador del tipo epoxi resina con antisépticos del tipo CHX, CTR o ambos, a concentraciones adecuadas, sus propiedades físicas estaban dentro de los estándares requeridos, y se mantuvo la actividad antibacteriana e inhibición de formación de biopelículas bacterianas de *E. faecalis* de forma eficaz durante semanas y meses.

25

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención describe una composición para el sellado endodóntico con actividad antibacteriana y con capacidad para impedir la formación de biopelículas o biofilms bacterianos tras el proceso de sellado en el tratamiento de conductos
5 radiculares. La composición comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora uno o más antisépticos catiónicos. En particular, la composición comprende un sellador endodóntico y al menos un antiséptico de naturaleza catiónica, preferentemente un surfactante y/o una bisguanida.

De forma preferente, el surfactante catiónico empleado es cetrimida (CTR), teniendo
10 siempre en cuenta que cuando se asocia con agentes aniónicos puede inactivarlos.

De forma preferente, la bisguanida utilizada es clorhexidina (CHX), y aún más preferentemente una solución de digluconato de clorhexidina.

En una realización preferente, la composición comprende un cemento sellador endodóntico con al menos un 0.1% de CTR.

15 En una realización preferente, la composición comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora entre 1 y 3% de CHX (p/p) y entre un 0.1 y un 1% de CTR (p/p).

En una realización aún más preferente la composición comprende un sellador endodóntico al que se incorpora entre un 2 y un 3% de CHX y entre un 0.1 y 0.5% de CTR.

20 En una realización más preferente la composición comprende un sellador endodóntico, y más preferentemente con un 2% de CHX y un 0.3% de CTR.

En otra realización preferente, la composición se caracteriza porque el único desinfectante catiónico que se incorpora al sellador endodóntico es CTR en una proporción superior o igual al 0.1% (p/p), más preferentemente en una proporción
25 mayor o igual al 1% y aún más preferentemente en una proporción del 1%.

En otra realización preferente, la CHX empleada es digluconato de CHX.

En otra realización preferente, la CTR empleada es bromuro de hexadeciltrimetilamonio.

De forma preferente, el sellador endodóntico es un material seleccionado del grupo
5 compuesto por resinas plásticas (epoxi-resina, resinas de metacrilato, resinas polivinílicas). De forma más preferente el material es resina epoxi. De forma aún más preferente, el sellador es una pasta de dos componentes basado en una resina epoxi-amina. De forma aún más preferente, el sellador es AH Plus®, compuesto por dos
10 pastas que se mezclan en el momento de la aplicación: pasta A: Resina epoxi de Bisfenol-A, Resina epoxi de Bisfenol-F, Tungstenato de calcio, Óxido de zirconio, Sílice y Óxido de hierro; y pasta B: Dibenzil-diamina, Aminoadamantano, Triciclo-decano-diamina, Tungstenato de calcio, Óxido de zirconio, Sílice y Aceite de silicona.

La adición de CTR y CHX al sellador le confiere actividad bactericida, particularmente frente a *E. faecalis*.

15 La combinación de AH Plus con CHX + CTR ha mejorado notablemente su efecto antimicrobiano. Usando el TCD un 2% CHX combinado con 0.3% CTR alcanzó un 100% de muerte bacteriana; y el 1% de CHX + 0.1% CTR fue capaz de inhibir completamente la formación de biopelículas de *E. faecalis*. Además, bajas
20 concentraciones de agentes antisépticos son suficientes para obtener éste efecto sin menoscabar las propiedades físico-químicas del sellador. Estudios previos con cementos de vidrio ionómero a los que incorporaron CHX y CTR mostraron que las propiedades antimicrobianas mejoradas se acompañaban de un deterioro de sus propiedades físicas.

25 MODOS DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

Para determinar las características de la composición objeto de esta invención se realizaron una serie de ensayos sobre distintas composiciones que basadas en el producto comercial AH Plus. A este sellador endodóntico se le incorporó digluconato de CHX en solución acuosa a distintas concentraciones (1%, 2% y 3%) (Guinama, Alboraya, España), CTR en polvo a distintas concentraciones (0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%. 1%, 2% y 3%) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania), y combinaciones de ambos antisépticos catiónicos, dando lugar a 35 grupos de estudio.

Además, en el ensayo se utilizó AH Plus sin incorporación de antisépticos como grupo de control.

Las distintas concentraciones y combinaciones de ambos antisépticos con el sellador se muestran en las Tablas 1 y 2. Se utilizó el término "inhibición absoluta" (IA) para indicar la inhibición del 100% de la formación de biopelículas y el término "erradicación" (E) se utilizó para expresar el 100% de muerte bacteriana.

A partir de un subcultivo de *E. faecalis* ATCC 29212, una suspensión estándar 1 de McFarland se preparó en BHI y después se diluyó para obtener una suspensión bacteriana inicial de aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC / ml) que se utilizó para el TCD y la determinación de biopelículas. Los experimentos se realizaron en condiciones estériles en una cámara de flujo laminar (Telstar SA, modelo de Bio-II-B, Tarrasa, España).

20 **Test de Actividad Antimicrobiana**

Para probar la actividad antimicrobiana de los materiales se utilizó una metodología basada en el TCD adaptada por Zhang et al. [Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. J Endod 2009;35:1051-5.]. Se utilizó una placa de microtitulación de 96 pocillos. Para estandarizar el área de los materiales probados, se

hizo un molde de silicona a medida, para encajar dentro de cada pocillo en la placa, dejando un área lateral pequeña para introducir la misma cantidad de material en cada uno de ellos. Los materiales se introdujeron usando un sistema de jeringa con aguja estéril (BD DISCARDIT II, Becton Dickinson SA Fraga, Huesca, España) y se dejaron
5 fraguar de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Posteriormente, los moldes se retiraron de cada pocillo y la placa de microtitulación de 96 pocillos se posicionó verticalmente y 10 µl de la suspensión bacteriana de *E. faecalis* se colocó con cuidado sobre los materiales. Después de la incubación a 37 ° C durante 1 h en una atmósfera húmeda, lo que garantiza el contacto entre la bacteria
10 y el material, la placa se puso en posición horizontal; entonces 220 µl de BHI se añadieron a cada pocillo y se mezcló suavemente con la pipeta durante 1 minuto. Finalmente, 50 µl fueron tomados de cada pocillo y se realizaron diluciones seriadas para su siembra y posterior recuento de células viables.

Formación de biopelículas sobre los materiales testados

15 Para el estudio de la formación de biopelículas de *E. faecalis* sobre los cementos selladores, se utilizó una metodología basada en el dispositivo biofilm Calgary (disponible comercialmente como MBEC-highthroughput [HTP]; Innovotech, Edmonton, Alberta, Canadá), originalmente descrita por Ceri et al [Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology
20 for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. J Clin Microbiol 1999;37:1771–6] y adaptado y modificado para *E. faecalis* [Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod 2009;35:711-4]. La mitad superior del MBEC-HTP es una
25 tapa con 96 pivotes idénticos, que en este caso se utilizaron para hacer los moldes de silicona. Cada material se introdujo en los moldes para obtener cilindros de material

idénticos. Un alambre de ortodoncia estéril de 1 cm de longitud se colocó en cada cilindro, mientras que el material fraguaba, siempre dejando aproximadamente 3 mm del mismo fuera del material para facilitar su posterior manipulación. Los moldes se incubaron a 37 ° C en medio húmedo hasta su completo fraguado.

- 5 Una placa de microtitulación de 96 pocillos se inoculó con 180 µl/pocillo de la suspensión de *E. faecalis* en BHI, tras lo cual se introdujeron los cilindros de cada material en los pocillos. El conjunto placa de microtitulación/cilindros fue colocado en una mesa oscilante (modelo de oscilación Sw 8 10000-00015; OVAN, Badalona, España), con 5 oscilaciones por minuto, y se incubó a 37 ° C durante 24 horas. A
- 10 continuación, los cilindros se introdujeron dos veces en placas de lavado conteniendo 200 µl de solución salina al 0,9% durante 2 minutos (cada vez). Seguidamente, se transfirieron a una placa de recuperación de microtitulación de 96 pocillos con 200 µl de BHI / pocillo, la cual se sonicó en un sonicador de mesa de agua (modelo 5510E-MT; Branson, Danbury, CT) durante 10 minutos para romper la estructura del biofilm y
- 15 recuperar las bacterias. Este procedimiento se realizó por cuadruplicado. Se realizaron diluciones seriadas de los biofilms recuperados y se sembraron en agar BHI que se incubaron para el recuento de células viables.

Los resultados de la actividad antimicrobiana y de la inhibición de la formación de biopelículas de *E. faecalis* se expresaron, respectivamente, como porcentaje de

20 muerte bacteriana y porcentaje de inhibición de la formación de biopelículas, calculado para cada material de la siguiente manera: $(1 - [\text{media CFU material probado} / \text{media CFU AH Plus}] \times 100)$. Se utilizó el término "inhibición absoluta" (IA) para indicar la inhibición del 100% de la formación de biopelículas y el término "erradicación" (E) para expresar el 100% de muerte bacteriana. Para comparar la eficacia de los

25 diferentes materiales, siempre que el porcentaje de muerte y el porcentaje de

inhibición variaron de 100%, se utilizó la prueba t de Student, sometiendo los datos previamente a la transformación Anscombe.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de biopelículas de *E. faecalis* de AH Plus combinado con CHX y/o CTR.

Grupos	Sin CHX	CHX 1.0%	CHX 2.0%	CHX 3.0%
Sin CTR	-	40.816% ¹	97.510% ²	99.693% ³
CTR 0.1%	99.853%	IA	IA	IA
CTR 0.2%	IA	IA	IA	IA
CTR 0.3%	IA	IA	IA	IA
CTR 0.4%	IA	IA	IA	IA
CTR 0.5%	IA	IA	IA	IA
CTR 1.0%	IA	IA	IA	IA
CTR 2.0%	IA	IA	IA	IA
CTR 3.0%	IA	IA	IA	IA

CTR: cetrimida, CHX: chlorhexidina.

Leído horizontalmente, los mismos números no muestran diferencias estadísticamente significativas.

IA: inhibición absoluta (100%).

5

Tabla 2. Media del porcentaje de muerte de *E. faecalis* de AH Plus combinado con CHX y/o CTR usando el test de contacto directo modificado.

Grupos	Sin CHX	CHX 1.0%	CHX 2.0%	CHX 3.0%
Sin CTR	-	88.947% ^{a,1}	90.262% ^{a,1}	91.052% ^{a,1}
CTR 0.1%	97.618% ^{a,1}	98.223% ^{b,2}	98.052% ^{b,2}	98.381% ^{b,2}
CTR 0.2%	98.25% ^{b,1}	98.355% ^{b,1}	98.5% ^{c,1}	98.855% ^{c,2}
CTR 0.3%	98.565% ^{b,c,1}	98.684% ^{c,1}	E	E
CTR 0.4%	98.789% ^{c,1}	99.013% ^{c,1}	E	E
CTR 0.5%	99.868% ^{d,1}	99.940% ^{d,1}	E	E
CTR 1.0%	E	E	E	E
CTR 2.0%	E	E	E	E
CTR 3.0%	E	E	E	E

CTR: cetrimida, CHX: chlorhexidina.

Leído verticalmente, las mismas letras no muestran diferencias estadísticamente significativas.

Leído horizontalmente, los mismos números no muestran diferencias estadísticamente significativas

E: erradicación.

10

Estudios previos mostraron que AH Plus por sí solo no es capaz de matar a las bacterias o inhibir la formación de biopelículas de *E. faecalis* [Slutzky-Goldberg I, Slutzky H, Solomonov M, Moshonov J, Weiss EI, Matalon S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. J Endod 2008;34:735–8] [Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. J Endod 2009; 35:1051-5]. El porcentaje de muerte y el porcentaje de inhibición de la formación de biopelículas de AH Plus combinado con CHX muestran una relación directa con la concentración utilizada, aunque ninguna de las concentraciones ensayadas logró E o IA.

10 AH Plus mezclado solo con CTR logró IA de la formación de biopelículas en una concentración de 0,2%. Sin embargo, la erradicación necesito una concentración 5 veces mayor, del 1%.

Los resultados de las combinaciones de CTR y CHX con AH Plus indican un efecto antimicrobiano sinérgico de ambos antisépticos, dado el porcentaje de muerte y la inhibición de la formación de biopelículas obtenidos. Fue necesario un 0,3% de CTR para erradicar *E. faecalis* cuando se combina con 2% o 3% CHX, y sólo se necesitó el 0,1% CTR para la IA de la formación de biopelículas cuando se mezcló con cualquier concentración CHX.

Propiedades físico químicas

20 Los antimicrobianos ensayados han sido Clorhexidina al 1 y 2%, Cetrimida al 0.1, 0.2, 0.3 y 0.5% y todas la combinaciones posibles.

Las pruebas físicas realizadas han sido las siguientes: 1. tiempo de fraguado, 2. fluidez, 3. solubilidad y 4. radiopacidad. La metodología utilizada ha seguido las normas estándar ANSI/ADA para materiales selladores del conducto radicular (especificación N° 57). Todos los materiales fueron manipulados según las

instrucciones del fabricante. La evaluación fue realizada por un operador que desconocía las concentraciones de los antimicrobianos que incorporaba cada cemento. De cada prueba y grupo de estudio se han realizado cinco réplicas. Los resultados se han expresado como media (desviación estándar). Los resultados se
5 analizaron estadísticamente mediante el test de Tukey.

1. Tiempo de fraguado:

Para cada grupo se rellenaron 5 pocillos de 10 mm de diámetro por 2 mm de grosor perforados en placas de polietileno y fijadas en placas de vidrio. Las muestras fueron almacenadas en estufa con 95% de humedad relativa y 37 °C. A los 150 ± 10
10 segundos desde que se comenzara a mezclar el sellador, una aguja tipo Gillmore con una masa de 100±0.5 g con una terminación plana de 2.0±0.1 mm de diámetro, fue apoyada cuidadosamente sobre la superficie horizontal de cada muestra testada. La punta de la aguja se limpió y la prueba se repitió hasta que la huella de la aguja en la superficie del cemento dejó de ser visible. El tiempo desde el inicio de la mezcla hasta
15 ese momento se consideró el tiempo de fraguado. Si los resultados diferían en más de ± 5%, la prueba era repetida.

Según las normas ANSI/ADA se considera válido cuando la variación del tiempo de fraguado es inferior al 10% del tiempo informado por el fabricante.

2. Fluidez:

20 Para la prueba de la fluidez, según la especificación nº 57 de la American Dental Association (REF), los selladores en todos los grupos testados fueron espatulados homogéneamente y un total de 0,5 ml de cada mezcla fue colocada sobre una placa de vidrio (40× 40×5 mm). Después de 180 ± 5 segundos de la mezcla, se colocó encima otra placa con una masa de 20 ± 2 g, sobre la que se aplicó una carga de 100
25 g en la parte superior del material. Diez minutos después del comienzo de la mezcla,

se retiró la carga y se midieron los diámetros mayores y menores de los discos comprimidos utilizando un calibre digital con una resolución de 0,01 mm (Mitutoyo MTI Corporation, Tokio, Japón).

5 Dos condiciones son necesarias para validar el test, la primera que la diferencia entre los diámetros máximo y mínimo no sea mayor de 1mm y que los discos comprimidos tengan una forma uniforme. Si las condiciones no se cumplen la prueba debe de ser repetida.

Según las normas ANSI/ADA se considera que la fluidez de un sellador de endodoncia debe obtener un diámetro mínimo 20mm.

10 3. Solubilidad

Sobre una placa de vidrio cubierta con papel de celofán, se colocaron placas de polietileno con anillos perforados de 20 mm de diámetro y 1.5 mm de grosor que fueron rellenados completamente con los selladores evaluados. Hilos de nylon fueron introducidos dentro de los selladores, y otra placa de vidrio cubierta con papel de celofán fue colocada encima. Todo este montaje se incubó en estufa a 37° y humedad relativa del 95%, por un periodo correspondiente a tres veces el tiempo de fraguado indicado por el fabricante. Tras este tiempo, los especímenes fueron desmoldados, deshumidificados durante 1 hora, y pesados tres veces cada espécimen, en balanza con una precisión de 0.0001 g. Las muestras, suspendidas por los hilos de nylon, 15 fueron introducidas en recipientes de plástico que contenían 7.5 ml de agua desionizada destilada, teniendo especial cuidado en que la muestra no tocara las paredes del recipiente. Todo el dispositivo se incubó en estufa con 95% de humedad relativa y 37 °C durante una semana. Transcurrido este tiempo, los materiales fueron secados con papel absorbente, desecados en cámara durante 24 horas y pesados de 20

nuevo. La pérdida de peso de cada muestra (diferencia entre el peso inicial y final) se expresa como porcentaje de la masa original.

Según las normas ANSI/ADA se considera válida cuando la pérdida de peso no exceda el 3%.

5 4. Radiopacidad

Se confeccionaron 5 muestras cilíndricas de cada material vertiendo los cementos mezclados en moldes de polietileno de 10 mm de diámetro por 1mm de grosor, de acuerdo con la especificación nº 57 de la ADA. Los anillos rellenos se mantuvieron en estufa a 37° C hasta que fraguaron completamente. Las muestras se retiraron
10 entonces, y el espesor se comprobó con un calibre digital (Mitutoyo Corp, Tokio, Japón).

Las muestras de sellador fueron colocadas sobre radiografías oclusales (D-speed; Kodak Comp, Rochester, NY) cerca de un escalímetro de aluminio graduado desde 2 a 16 mm de aluminio (en incrementos de 2mm). Se tomaron radiografías, usando una
15 unidad radiográfica (Trophy Radiologie, Vincennes, France) operando a 60 kV y 10 mA con un tiempo de exposición de 0,3 segundos y una distancia foco-película de 30 cm. Inmediatamente después, las radiografías fueron digitalizadas utilizando un escáner digital e importadas a Adobe Photoshop 11.1 para Windows (Adobe System Inc. San Jose CA, USA) para la determinación de la densidad radiográfica (análisis
20 densitométrico) en escala de grises. El valor de la radiopacidad se determinó de acuerdo con la densidad radiográfica transformada en milímetros de aluminio siguiendo el método descrito por Duarte et al ([Duarte MA, Ordinola-Zapata R, Bernardes RA, Bramante CM, Bernardineli N, Garcia RB, de Moraes IG. Influence of calcium hydroxide association on the physical properties of AH Plus. J Endod.
25 2010;36:1048-51].

La media y desviación estándar del tiempo de fraguado, fluidez, solubilidad y radiopacidad del cemento de epoxi-resina AH Plus y las combinaciones testadas se exponen en la Tabla 3.

5 Tiempo de fraguado: El cemento AH Plus, según el fabricante, requiere al menos un mínimo de 8 horas y 25 minutos de tiempo de fraguado (505 min). No se especifica el tiempo máximo. En nuestro estudio los resultados del cemento así como de todas las combinaciones con los antimicrobianos, están dentro de las normas requeridas por la ANSI/ADA. De forma global, la incorporación de CHX y sus combinaciones con CTR reducen el tiempo de fraguado mientras que CTR sola lo aumenta.

10 Fluidez: El cemento AH Plus y todas las combinaciones testadas cumplen los requisitos de la ANSI/ADA ya que se consiguen diámetros superiores a 20 mm. La incorporación de los antimicrobianos modifica ligeramente los diámetros obtenidos con AH Plus. Clorhexidina aumenta la fluidez, cetrimida la reduce y las combinaciones obtienen valores intermedios y por lo tanto superponibles a AH Plus.

15 Solubilidad: AH Plus y todas sus mezclas no excedieron el porcentaje de pérdida de peso del 3% requerido por las normas ANSI/ADA. En ningún caso la solubilidad de las muestras alcanzó el 1%.

20 Radiopacidad: Todos los materiales testados mostraron una radiopacidad superior a los 3 mm requeridos por las normas internacionales. La incorporación de los antimicrobianos modifica ligeramente la radiopacidad obtenida con AH Plus. CHX la disminuye, CTR la aumenta y las combinaciones obtienen valores intermedios y por lo tanto, superponibles a AH Plus.

TABLA 3. Propiedades físicas de AH Plus y sus combinaciones con Clorhexidina y Cetrimida. Media (desviación standard).

	Tiempo de fraguado (min)	Fluidez (mm)	Solubilidad (% reducción)	Radiopacidad (mm Al)
AH Plus	890.59 (1.15) ^a	38.85 (0.24) ^{a,g}	0.197 (1.15) ^a	6.80 (0.03) ^{a,c,d}
AH Plus + 1%CHX	588.43 (1.09) ^b	40.14 (0.30) ^{b,c}	0.111 (0.074) ^{a,b}	6.43 (0.04) ^b
AH Plus + 2%CHX	577.70 (1.46) ^{c,d}	40.50 (0.42) ^c	0.09 (0.045) ^{a,b}	6.45 (0.07) ^b
AH Plus + 0.1%CTR	906.10 (0.38) ^g	37.77 (0.22) ^d	0.046 (0.053) ^b	7.06 (0.04) ^{f,g}
AH Plus + 0.2%CTR	911.35 (0.46) ^h	37.03 (0.57) ^d	0.040 (0.039) ^b	7.08 (0.04) ^{f,g}
AH Plus + 0.3%CTR	911.44 (1.47) ^h	36.23 (0.81) ^e	0.041 (0.022) ^b	7.10 (0.71) ^g
AH Plus + 0.5%CTR	913.07 (0.79) ^h	35.19 (0.32) ^f	0.097 (0.028) ^{a,b}	7.14 (0.05) ^g
AH Plus + 1%CHX + 0.1%CTR	579.65 (0.80) ^{d,e,f}	39.30 (0.21) ^{a,g}	0.098 (0.024) ^{a,b}	6.78 (0.08) ^{a,c}
AH Plus + 1%CHX + 0.2%CTR	581.64 (1.15) ^f	39.06 (0.11) ^{a,g}	0.107 (0.075) ^{a,b}	7.05 (0.01) ^{e,f,g}
AH Plus + 1%CHX + 0.3%CTR	588.73 (0.65) ^b	39.05 (0.27) ^{a,g}	0.109 (0.025) ^{a,b}	6.91 (0.16) ^{c,d,e}
AH Plus + 1%CHX + 0.5%CTR	589.87 (0.58) ^b	38.59 (0.39) ^a	0.134 (0.026) ^{a,b}	6.81 (0.05) ^{a,c,d}
AH Plus + 2%CHX + 0.1%CTR	576.79 (0.56) ^c	39.58 (0.19) ^{b,g}	0.080 (0.036) ^{a,b}	6.57 (0.03) ^b
AH Plus + 2%CHX + 0.2%CTR	578.81 (0.62) ^{c,d,e}	39.29 (0.23) ^{a,g}	0.098 (0.02) ^{a,b}	6.89 (0.05) ^{c,d}
AH Plus + 2%CHX + 0.3%CTR	580.64 (1.06) ^{e,f}	39.41 (0.24) ^{b,g}	0.026 (0.053) ^c	6.72 (0.02) ^a
AH Plus + 2%CHX + 0.5%CTR	581.44 (1.53) ^f	39.14 (0.24) ^{a,g}	0.088 (0.083) ^{a,b}	6.94 (0.07) ^{d,e,f}

*Leído verticalmente, los mismas letras muestran que no hay diferencias estadísticamente significativas (test de Tukey). "mm Al" indica milímetros de aluminio.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición para el sellado endodóntico que comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora uno o más antisépticos catiónicos.
- 10 2. Composición para el sellado endodóntico que comprende un sellador endodóntico y un antiséptico catiónico, preferentemente un surfactante catiónico y una bisguanida.
- 15 3. Composición, según reivindicación anterior, en el que el surfactante catiónico es Cetrimida (CTR).
- 20 4. Composición, según reivindicación anterior, en el que la bisguanida es Clohexidina (CHX).
- 25 5. Composición para el sellado endodóntico que comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora entre 2 y 3% de CHX (p/p).
- 30 6. Composición para el sellado endodóntico que comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora al menos un 0.1% de CTR (p/p).
- 35 7. Composición para el sellado endodóntico que comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora al menos un 1% de CTR (p/p), preferentemente un 1% de CTR (p/p).
8. Composición para el sellado endodóntico que comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora entre 1 y 3% de CHX (p/p) y entre un 0.1 y un 1% de CTR (p/p).
9. Composición según reivindicación anterior que comprende entre un 2 y un 3% de CHX y entre un 0.1 y 0.5% de CTR.
10. Composición según reivindicación anterior que un 2% de CHX y un 0.3% de CTR.

11. Composición según reivindicaciones 6 ó 7, caracterizada porque el único desinfectante catiónico que se incorpora es CTR.
- 5 12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que la clorhexidina empleada es digluconato de clorhexidina en solución acuosa.
13. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que la cetrimida empleada es bromuro de hexadeciltrimetilamonio.
- 10 14. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizada porque el sellador endodóntico comprende mayoritariamente un material seleccionado del grupo compuesto por resinas plásticas.
- 15 15. Composición según reivindicación anterior caracterizada porque el sellador endodóntico comprende mayoritariamente resina epoxi, preferentemente resina epoxi-amina.
16. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para fabricar un sellador endodóntico que previene la formación de biopelículas bacterianas tras su aplicación en el sellado de conductos radiculares.
- 20 17. Uso según reivindicación anterior en el que la biopelícula bacteriana está formada por *E. Faecalis*.
- 25 18. Uso según cualquiera de las reivindicaciones para fabricar un sellador endodóntico con actividad bactericida.
19. Uso según cualquiera de las reivindicaciones para fabricar un sellador endodóntico con actividad bactericida frente a *E. Faecalis*.
- 30



②① N.º solicitud: 201330953

②② Fecha de presentación de la solicitud: 25.06.2013

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	EP 2229929 A1 (DENTSPLY DETREY GMBH) 22/09/2010, párrafos [0008]-[0011]; [0042]-[0043]; ejemplo 11.	1-5, 12-14, 16, 18
Y		6-11, 15, 17, 19
X	WO 0016712 A2 (ADVANTAGE DENTAL PRODUCTS INC et al.) 30/03/2000, página 3, línea 11 – página 8, línea 22; ejemplos.	1, 2, 4, 5, 12, 14, 16, 18
Y		3, 6-11, 13, 15, 17, 19
X	WO 2007038764 A2 (ESSENTIAL DENTAL SYSTEMS INC et al.) 05/04/2007, párrafos [0009]-[0011]; [0043].	1, 2, 4, 5, 12, 14-16, 18
Y		3, 6-11, 13, 17, 19
Y	ARIAS-MOLIZ MARIA TERESA et al. Eradication of <i>Enterococcus faecalis</i> biofilms by cetrimide and chlorhexidine..Journal of endodontics United States Jan 2010 00/01/2010 VOL: 36 No: 1 Pags: 87 – 90 ISSN 1878-3554 (Electronic) Doi: doi:10.1016/j.joen.2009.10.013 pubmed:20003941	3, 6-11, 13, 15, 17, 19

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
29.07.2013

Examinador
N. Vera Gutiérrez

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C08L63/00 (2006.01)

A61K6/08 (2006.01)

C08K5/19 (2006.01)

C08K5/31 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C08L, A61K, C08K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, REGISTRY, CAS, WPI, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, NPL, XPESP

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 29.07.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 6-11, 17, 19	SI
	Reivindicaciones 1-5, 12-16, 18	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-19	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	EP 2229929 A1 (DENTSPLY DETREY GMBH)	22.09.2010
D02	WO 0016712 A2 (ADVANTAGE DENTAL PRODUCTS INC et al.)	30.03.2000
D03	WO 2007038764 A2 (ESSENTIAL DENTAL SYSTEMS INC et al.)	05.04.2007
D04	ARIAS-MOLIZ MARIA TERESA et al. Eradication of <i>Enterococcus faecalis</i> biofilms by cetrimide and chlorhexidine..Journal of endodontics United States Jan 2010 00/01/2010 VOL: 36 No: 1 Pags: 87 - 90 ISSN 1878-3554 (Electronic) Doi: doi:10.1016/j.joen.2009.10.013 pubmed:20003941	01.2010

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención se refiere a una composición para el sellado endodóntico que comprende un sellador endodóntico al que se le incorpora uno o más antisépticos catiónicos, como clorhexidina o cetrimida.

El documento D01 divulga una composición selladora endodóntica en forma de dispersión que comprende una fase acuosa con un componente polimérico y una fase dispersa con un agente radio-opaco. La composición puede incluir un antiséptico para prevenir la infección bacteriana; entre ellos se cita clorhexidina y bromuro de cetiltrimetilamonio (párrafos [0042], [0043]). En el ejemplo 11 se prepara una composición selladora a base de polietilenimina que contiene clorhexidina (2,09%).

El documento D02 divulga una composición selladora para uso dental que comprende una resina polimerizable y un agente antimicrobiano. En los ejemplos se preparan composiciones que incluyen polímeros acrílicos y clorhexidina en proporciones 1%, 3%, 5%, 6% y 10%. Se cita que las composiciones pueden incluir otros agentes biocidas y antimicrobianos (página 8, líneas 1-7; líneas 18-20).

El documento D03 divulga una composición selladora endodóntica a base de un polímero epoxi, que puede incluir clorhexidina (0.01-3%) como agente antimicrobiano (párrafos [0009]-[0011]; [0043]).

A la vista de los documentos citados, se considera que la invención tal como se define en las reivindicaciones 1-5, 12-16, 18 no es nueva (Artículo 6.1 L.P.).

El documento D04 divulga un estudio para valorar la eficacia de los antisépticos cetrimida y clorhexidina, solos o en asociación, en la erradicación de biopelículas de *Enterococcus faecalis*. Para ello, se preparan soluciones de irrigación dental que comprenden distintas proporciones de cetrimida (0,1%-0,0025%) y de clorhexidina (4%-0,0078%). Las composiciones que contienen 0,1% y 0,05% de cetrimida y cualquiera de las proporciones de clorhexidina se muestran eficaces en todos los tiempos de contacto ensayados. El uso asociado de cetrimida y clorhexidina proporciona mejores resultados que sus aplicaciones como agentes individuales.

Se considera que el experto en la materia, a la vista del estado de la técnica (en particular en el documento D02 se cita la posibilidad de incluir varios agentes antisépticos en la composición), podría incorporar los conocimientos divulgados en D04 a cualquiera de las composiciones selladoras que incluyen clorhexidina u otros antisépticos ya existentes en el estado de la técnica, con una expectativa razonable de éxito. Por ello, y en ausencia de un efecto técnico sorprendente asociado a la selección de una proporción de cetrimida superior a 0,1%, se considera que la invención tal como se define en las reivindicaciones 6-11, 17, 19 de la solicitud no implica actividad inventiva (Artículo 8.1 L.P.).