



DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

*DESINFECCIÓN DE
CONDUCTOS RADICULARES
CON DIFERENTES SISTEMAS
ROTATORIOS*

Memoria de TESIS DOCTORAL presentada por
INMACULADA BEJARANO ESCRIBANO para optar
al Título de Doctor

Granada, 2014

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Inmaculada Bejarano Escribano
D.L.: GR 1974-2014
ISBN: 978-84-9083-174-8



ugr

Universidad
de Granada



La doctoranda INMACULADA BEJARANO ESCRIBANO y las directoras de la tesis CARMEN MARÍA FERRER LUQUE Y PILAR BACA GARCÍA, garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por la doctoranda bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

En Granada, a nueve de junio de 2014.

Director/es de la Tesis

Fdo.: Dra. D^a Carmen M^a Ferrer Luque
Profesora Titular de Patología
Terapéutica Dental
Departamento de Estomatología
Universidad de Granada

Fdo.: Dra. D^a Pilar Baca García
Catedrática de Odontología Preventiva
Departamento de Estomatología
Universidad de Granada

La Doctoranda
Fdo.: Inmaculada Bejarano Escribano



AGRADECIMIENTOS

Haciendo un recorrido por todos estos últimos años desde que comencé este viaje en la Odontología ha habido muchos momentos que no olvidaré, muchas anécdotas que quedarán en el recuerdo y mucha gente a la que mencionar en este gran camino.

Cuando llegué a la Facultad fue un mundo nuevo, de gente, proyectos, metas y... nuevos retos. Sin lugar a dudas mereció la pena y si tuviera que volver a ese primero de una carrera, volvería a Odontología y no sólo por lo que me ha aportado a nivel de conocimientos, madurez y desarrollo personal sino además, por toda la gente que en mayor o menor medida ha colaborado para que todo este viaje sea único, en especial mi familia, mis amigos y mis tutoras.

A mis tutoras, la Dra. Carmen M^a Ferrer Luque y la Dra. Pilar Baca García, que han sido dos grandes profesionales, de las cuales he aprendido muchísimo y que por supuesto este trabajo no hubiera salido hacia delante sin su apoyo incondicional y sus grandes conocimientos en la investigación. Carmen, gracias por creer en mí, una llamada que cambió un momento en el que poca gente me entendía desde el punto de vista profesional y que tú me animaste a seguir. Pilar, gracias por tu experiencia y tu confianza. En definitiva, GRACIAS a las dos personas que habéis hecho que esta Tesis Doctoral se lleve a cabo y que ha sido todo un lujo teneros como tutoras.

A mi familia, agradecer especialmente a mis padres, por su esfuerzo, cariño y consejos, “antes o después todo se consigue, lo

importante es seguir SIEMPRE hacia delante". A mi hermana que siempre ha estado ahí y seguirá siendo mi peque.

A todos mis amigos que siempre han sabido tener una palabra de ánimo, una sonrisa y un "tú puedes" para seguir sin rendirte y en especial a mis odontólogos, ya que sin sus risas, quedadas y ánimos a lo largo de la carrera y en esta nueva etapa, jamás nada habría sido igual.

Mi agradecimiento al Dr. Mariano Valderrama Bonnet del Departamento de Estadística, ha sido de gran ayuda en el análisis estadístico en la Tesis Doctoral y a Gertrudis Gómez Villaescusa, su colaboración ha sido esencial en la preparación de las muestras.

En todo este recorrido, no puedo olvidarme de Francisca Castillo Pérez, ya que ha sido uno de los grandes apoyos de este proceso, una persona trabajadora, servicial y cariñosa donde las haya, que ha hecho que este camino haya contado con muchos menos obstáculos. Gracias Paqui, no cambies.

Por último, agradecer a todas y cada una de las personas que me he ido encontrando a lo largo de estos años y que sería imposible mencionarlas a todas, pero que sepan que escribiendo esto me he acordado de cada una que dijo: "continúa, lo conseguirás", "venga ya queda menos", sinceramente gracias por esas palabras de ánimo, esas sonrisas y ese apoyo, sirvieron en su momento y quedarán guardados en una cajita por siempre, GRACIAS DE CORAZÓN.



ÍNDICE

1. Justificación y Objetivos	1
2. Introducción	7
2.1. Microbiota del conducto radicular	9
2.2. Preparación de conductos radiculares	15
2.2.1. Instrumentación de conductos radiculares	15
<i>Sistemas rotatorios Mtwo®, Twisted Files™ y WaveOne™</i>	17
2.2.2. Irrigación de conductos radiculares	23
<i>Soluciones antimicrobianas</i>	25
<i>Hipoclorito de sodio</i>	25
<i>Clorhexidina</i>	27
<i>Cetrimida</i>	28
<i>Agentes quelantes</i>	28
<i>Ácido etilendiamino tetraacético (EDTA)</i>	29
<i>Ácido Cítrico</i>	30
2.3. Eficacia de los sistemas de instrumentación en el control de la infección	31
3. Material y Métodos	41
3.1. Materiales	43
3.2. Método	47
3.2.1. Selección de la muestra	47
3.2.2. Preparación de los especímenes	48
3.2.3. Inoculación con Enterococcus faecalis	50

<i>3.2.4. Preparación del conducto</i>	52
<i>3.2.5. Recrecimiento de Enterococcus faecalis</i>	54
<i>3.2.6. Análisis estadístico</i>	55
4. Resultados	57
4.1. Resultados a corto plazo	59
4.2. Recrecimiento a largo plazo en grupos NaOCl	60
4.3. Comparación de dos métodos para la toma de muestra	63
5. Discusión	65
5.1. Validez interna del estudio	67
5.2. Eficacia a corto plazo de los sistemas de instrumentación mecánica en la desinfección de conductos radiculares	73
5.3. Eficacia a largo plazo de los sistemas de instrumentación mecánica irrigados con NaOCl al 5,25%. Recrecimiento bacteriano	79
6. Conclusiones	85
7. Bibliografía	89
8. Producción científica	112



JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El principal factor asociado al fracaso del tratamiento endodóntico es la infección microbiana. Por tanto, prevenir la contaminación del espacio pulpar, durante y después del tratamiento de conductos radiculares¹, es el objetivo primordial del tratamiento endodóntico.

Durante las últimas décadas, la endodoncia se ha beneficiado de los innumerables avances y recursos tecnológicos con el objetivo de mejorar el pronóstico del tratamiento de conductos radiculares, contribuyendo así a la preservación de los dientes. El uso de instrumental rotatorio, fabricado con níquel-titanio, permite realizar una preparación uniforme, centrada y en menos tiempo, reduciendo la fatiga de trabajo del operador y el estrés del paciente². No obstante, la instrumentación no elimina todos los microorganismos del interior del conducto radicular y son necesarios agentes antimicrobianos, de uso común, para conseguir la limpieza y desinfección del complejo sistema de conductos radiculares.

La preparación del conducto radicular, con instrumentos adecuados y soluciones irrigadoras, elimina los microorganismos adheridos a las paredes de la dentina³. En este sentido, el instrumental rotatorio aumenta su eficacia en la reducción de la

¹ Sauáia TS, Gomes BP, Pinheiro ET, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microleakage evaluation of intraorifice sealing materials in endodontically treated teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102(2):242-6.

² Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. J Endod. 2010;36:1238-40.

³ Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res. 1981;89:321-8.

TESIS DOCTORAL

carga bacteriana cuando se asocia con el uso de soluciones antisépticas⁴; si además, se utiliza medicación intraconducto, se consigue una mayor optimización en la eliminación de los microorganismos⁵. Aunque lo ideal en todo este proceso sería la eliminación completa de la microbiota del conducto radicular, esto es casi imposible por la compleja anatomía y limitaciones de acceso al conducto por los instrumentos y soluciones irrigadoras⁶. Por lo tanto, el objetivo realista y alcanzable es reducir las poblaciones bacterianas por debajo de los niveles necesarios para inducir la enfermedad⁷.

Hoy día, muchos de los trabajos realizados en este ámbito se centran en las propiedades antimicrobianas de los agentes de irrigación. Sin embargo, en la literatura, hay pocos trabajos^{8,9,10,11,12}

⁴ Shuping GB, Orstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod.* 2000;26:751-5.

⁵ Young GR, Parashos P, Messer HH. The principles of techniques for cleaning root canals. *Aust Dent J.* 2007;52:S52-63.

⁶ Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34:1291-1301.

⁷ Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30:297-306.

⁸ Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Rôças IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. *J Endod.* 2010;36:1860-5.

⁹ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod.* 2010;36:1238-40.

¹⁰ Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in Enterococcus faecalis colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:105-10.

¹¹ Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO. Effectiveness of three instrumentation systems to remove Enterococcus faecalis from root canals. *Int Endod J.* 2012;45(5):435-8.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

que comparan la eficacia de las técnicas de instrumentación rotatoria en la desinfección de conductos radiculares, con o sin el uso de soluciones irrigadoras antisépticas. Además, son muy escasos¹³ los que se centran en valorar en el tiempo la eficacia de los diferentes sistemas rotatorios, es decir, la actividad antibacteriana residual y su acción sobre la superficie dentinaria^{14,15}. Este es un aspecto relevante, porque la adherencia microbiana a la dentina es el primer paso en la colonización para, posteriormente, formar biopelículas¹⁶. Los microorganismos que quedan en el interior de los túbulos dentinarios, muchos en estado de latencia, pueden provocar la reinfeción del conducto radicular principal y como consecuencia el fracaso del tratamiento endodóntico. Por otro lado, ningún instrumento puede alcanzar la limpieza completa del sistema de conductos^{17,18} y muy

¹² Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. *Int Endod J.* 2013;46(3):217-24.

¹³ 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(8):1121-3.

¹⁴ Kishen A, Sum CP, Mathew S, et al. Influence of irrigation regimens on the adherence of Enterococcus faecalis to root canal dentin. *J Endod.* 2008;34:850-4.

¹⁵ Chávez de Paz LE, Bergenholz G, Svensäter G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. *J Endod.* 2010;36:70-7.

¹⁶ 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.

¹⁷ Usman N, Baumgartner JC, Marshall JG. Influence of instrument size on root canal debridement. *J Endod.* 2004;30:110-2.

¹⁸ Fornari VJ, Silva-Sousa YT, Vanni JR, Pécora JD, Versiani MA, Sousa-Neto MD. Histological evaluation of the effectiveness of increased apical enlargement for cleaning the apical third of curved canals. *Int Endod J.* 2010;43:988-94.

TESIS DOCTORAL

especialmente en el tercio apical de la raíz, por lo que la limpieza en esta zona es limitada¹⁹.

Por todo ello, en este trabajo de Tesis Doctoral se han planteado los siguientes objetivos:

1. Evaluar la eficacia de los sistemas rotatorios Mtwo, Twisted Files y WaveOne en la preparación de conductos radiculares infectados con *Enterococcus faecalis* e irrigados con agua destilada.
2. Determinar la eficacia de una solución de hipoclorito de sodio al 5.25% en la desinfección de conductos radiculares instrumentados con los sistemas Mtwo, Twisted Files y WaveOne.
3. Valorar y comparar, en el tiempo, la eficacia de desinfección de conductos radiculares de los sistemas Mtwo, Twisted Files y WaveOne.
4. Comparar la eficacia en la reducción de la carga bacteriana de los tres sistemas de instrumentación utilizando para la recogida de muestras puntas de papel o limas Hedström.

¹⁹ Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, Malagnino VA. SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. Int Endod J. 2004;37:832-839.



INTRODUCCIÓN

La instrumentación del conducto radicular, también llamada preparación biomecánica del conducto o limpieza y conformación de los conductos radiculares²⁰, se considera primordial para obtener el éxito en la terapia endodóntica. La fase de preparación tiene dos objetivos fundamentales²¹:

- La limpieza y desinfección del sistema de conductos radiculares, respetando al máximo la anatomía interna original.
- La conformación progresivamente cónica desde el orificio de entrada, a nivel de la cámara pulpar, hasta el ápice radicular, manteniendo la posición y el diámetro de la constricción y del orificio apical. Esta forma cónica facilitará la entrada de las soluciones irrigadoras, medicamentos y material de obturación.

2.1. Microbiota del conducto radicular

La mayor parte de las bacterias presentes en el sistema de conductos radiculares provienen de la microbiota oral²². Este sistema es un hábitat selectivo que permite el crecimiento preferente de determinadas especies de bacterias sobre otras. El líquido hístico y los productos de degradación de la pulpa necrótica brindan nutrientes ricos en polipéptidos y aminoácidos. Éstos, junto a la baja tensión de oxígeno, la presencia de subproductos derivados del

²⁰ Schidler H. Clearing and shaping the root canal. Dent Clin North Am. 1974;18:269-96.

²¹ Canalda Sahli C, Brau Aguadé E. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. Masson. 2006;Cap15.p.159.

²² Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. Oral Microbiol Immunol. 1997;12:318-22.

TESIS DOCTORAL

metabolismo bacteriano, y la interrelación entre los microorganismos, determinarán las especies predominantes^{23,24}.

Debido a que en la década de los sesenta las técnicas de cultivo para detectar bacterias anaerobias estrictas eran inadecuadas, los microorganismos que se identificaban en los conductos radiculares eran especies aerobias y anaerobias facultativas como estreptococos, lactobacilos y actinomices. El desarrollo de procedimientos para detectar anaerobios estrictos puso de manifiesto su presencia en la luz del conducto radicular; es el caso de *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Eubacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Veillonella* spp., *Prevotella* spp. y *Porphyromonas* spp²⁵. También, se han aislado otros microorganismos como hongos, *Candida* y *Saccharomyces*²⁶, y espiroquetas, como *Treponema* spp.²⁷.

Por tanto, las infecciones endodónticas son polimicrobianas, aunque se considera que la mayor parte de las bacterias en estos procesos son anaerobias estrictas, las cuales proliferan en ausencia de oxígeno. Funcionan con potenciales de oxidación-reducción bajos, y generalmente carecen de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa. Algunas especies son microaerófilas, y, aunque pueden

²³ Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol.* 1992;7:257-62.

²⁴ Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992;18:427-30.

²⁵ Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19:71-6.

²⁶ Lana MA, Ribeiro-Sobrinho AP, Stehling R, Garcia GD, Silva BKC, Hamdan JS, Nicoli JR, Carvalho MAR, Farias L de M. Microorganisms isolated from root Canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immunol.* 2001;16:100-5.

²⁷ Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KRN, Coelho AMA. "Red Complex" (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema dentícola*) in endodontic infections: a molecular approach. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91:468-71.

multiplicarse en un medio con oxígeno, obtienen predominantemente su energía de vías anaerobias. Otras son anaerobias facultativas que se reproducen en presencia o ausencia de oxígeno y suelen tener enzimas superóxido dismutasa y catalasa. Esta multiplicidad respiratoria hace que la microbiota detectada tenga un carácter mixto²⁸.

Enterococcus faecalis

Los enterococos son uno de los principales patógenos nosocomiales. Aunque forman parte de la flora intestinal de los individuos sanos y no se les atribuye una elevada virulencia, en el ámbito hospitalario constituyen una de las causas más importantes de endocarditis, bacteriemia, infección urinaria e infección de heridas²⁹. Las especies aisladas con más frecuencia son *Enterococcus faecalis* (80-90%) y *Enterococcus faecium* (5-10%). Al creciente protagonismo de los enterococos en este ámbito ha contribuido su resistencia intrínseca a un amplio número de antibióticos y su gran capacidad para adquirir nuevas resistencias. Además, su tolerancia a la actividad bactericida de los betalactámicos y glucopéptidos hace necesaria la combinación con aminoglucósidos en infecciones graves como meningitis o endocarditis³⁰.

²⁸ Siqueira JF, Rôças IN, Souto R, de Uzedo M, Colombo A. Actinomyces species, streptococci, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections. J Endod. 2002;28(3):168-72

²⁹ Lewis CM, Zervos MJ. Clinical manifestations of enterococcal infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1990;9:111-7.

³⁰ Moellering RC. Antimicrobial susceptibility of enterococci: in vitro studies of the action of the antibiotics alone or in combination. In: Bisno L, editor. Treatment of infective endocarditis. New York: Grune and Stratton. 1981;p.81-96.

TESIS DOCTORAL

El término “enterococo” fue utilizado por primera vez en 1899 por Thiercelin³¹ para referirse a un diplococo gran positivo encontrado en el intestino humano. En el mismo año, MacCallum y Hastings³² describieron un caso de endocarditis atribuido a un microorganismo que ellos llamaron *Micrococcus zymogenes*, y que posteriormente se identificó como un enterococo hemolítico³³. La denominación *Streptococcus faecalis* fue acuñada por Andrewes y Holder³⁴ en 1906, para designar a un microorganismo aislado de un paciente con endocarditis, aludiendo el nombre específico a su hábitat, el intestino. Desde entonces, su denominación se ha mantenido relacionada con la polémica en torno a la clasificación del género *Streptococcus*.

Los enterococos son cocos grampositivos que se visualizan como células aisladas, en parejas o bien en cadenas cortas. Son anaerobios facultativos, ya que carecen de catalasa, poseen superóxido dismutasa y peroxidases que eliminan respectivamente el O₂ y el H₂O₂ que se genera en condiciones de aerobiosis³⁵. Catabolizan una gran variedad de fuentes energéticas incluyendo carbohidratos, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina, agmatina y muchos α-aceto ácidos³⁶. Los enterococos sobreviven en condiciones

³¹ Thiercelin ME. Sur un diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogen. CR Soc Biol. 1899;5:269-71.

³² MacCallum WG, Hastings TW. A Case of Acute Endocarditis Caused by *Micrococcus Zymogenes* (Nov. Spec.), with a Description of the Microorganism. J Exp Med. 1899;4(5-6):521-34.

³³ Sherman JM. The streptococci. Bacteriol Rev. 1937;1:3-97.

³⁴ Andrewes EW, Holder TJ. A study of the streptococci pathogenic for man. Lancet 1906;11:708-13,775-82.

³⁵ Piard JC, Desmazeaud M. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. I. Oxygen metabolites and catabolism end-products. Lait 1992;71:525-41.

³⁶ 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.

ambientales muy adversas, de modo que soportan niveles de pH de 9,6 así como elevadas concentraciones de NaCl³⁷. Son resistentes a sales biliares, detergentes, metales pesados, etanol, azida y a la desecación³⁸. Crecen entre 10 y 45°C y sobreviven a 60°C durante 30 minutos³⁹.

E. faecalis es la especie más representativa del género *Enterococcus*. Es una especie aislada comúnmente de la periodontitis apical persistente^{40,41,42}. Algunos factores que pueden facilitar su supervivencia a largo plazo en el conducto radicular son su capacidad de adherirse a la dentina e invadir los túbulos dentinarios^{43,44} y su capacidad de organizarse para formar biopelículas (biofilms), incluso en situaciones en las que los nutrientes son escasos⁴⁵. Las biopelículas incrementan la resistencia bacteriana y favorecen la persistencia en el interior de los conductos radiculares tras los procedimientos terapéuticos⁴⁶. Además, puede

³⁷ Tendolkar PM, Baghdyan AS, Shankar N. Pathogenic entorococci: new developments in the 21st century. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60:2622-36.

³⁸ 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.

³⁹ Tendolkar PM, Baghdyan AS, Shankar N. Pathogenic entorococci: new developments in the 21st century. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60:2622-36.

⁴⁰ Molander A, Reit C, Dahlén G, et al. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998;31:1-7.

⁴¹ Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, et al. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J.* 2001;34:429-34.

⁴² Rôcas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004;30:315-20.

⁴³ Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J.* 2005;38:735-42.

⁴⁴ Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2008;41:873-82.

⁴⁵ 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(12):867-72.

⁴⁶ Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002;28:689-93.

TESIS DOCTORAL

sobrevivir a ambientes de pH alto sin interaccionar con otros microorganismos⁴⁷. *E. faecalis*, se encuentra con frecuencia en la raíz de dientes obturados, con una prevalencia del 30% al 90%⁴⁸, por lo que el fracaso del tratamiento puede ser relativamente frecuente debido a que los microorganismos invaden los túbulos dentinarios. Aunque, no se sabe demasiado sobre los mecanismos implicados en la invasión bacteriana, el contenido de colágeno en los túbulos dentinarios está asociado con la invasión bacteriana, ya que el colágeno, confiere adherencia y favorece el crecimiento de las células⁴⁹. Love MR⁵⁰, demostró que las bacterias orales relacionadas con la caries dental y las enfermedades endodónticas utilizaban como fuente de energía los fluidos tisulares, lo que explicaría que los microorganismos presentes en el interior de los túbulos dentinarios sobrevivieran gracias al líquido tisular del ligamento periodontal y del hueso alveolar que le sirve de nutriente⁵¹.

⁴⁷ 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.

⁴⁸ Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with apical periodontitis. International Endodontics Journal. 1998;31:1-7.

⁴⁹ Love MR, McMillan MD, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral streptococci is associated with collagen recognition mediated by the antigen I/II family of polypeptides. Infection and Immunity. 1997;65:5157-64.

⁵⁰ Love MR. Enterococcus faecalis - a mechanism for its role in endodontic failure. International Endodontic Journal. 2001;34:399-405.

⁵¹ Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Enterococcus faecalis within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10-7.

2.2. Preparación de conductos radiculares

2.2.1. Instrumentación de conductos radiculares

La preparación de conductos radiculares se realiza con instrumentos manuales, instrumentos accionados de forma mecánica, o mediante la combinación de ambos.

Las limas K, de acero inoxidable, son los instrumentos más utilizados en la preparación manual de conductos radiculares^{52,53}. Su capacidad de corte es mayor⁵⁴ que la de limas fabricadas en titanio-aluminio y níquel-titanio (NiTi), y el tiempo de instrumentación requerido es menor. La instrumentación manual de los conductos puede realizarse mediante técnicas apicocoronales o coronoapicales; siendo ésta última de elección para lograr una mayor desinfección del sistema de conductos radiculares⁵⁵.

El uso de aleaciones NiTi y las modificaciones en la fabricación^{56,57} de los instrumentos, tales como: diferentes conicidades, y perfiles de sección, distintos ángulos de corte, profundidad de las espiras y

⁵² Eldeeb ME, Boraas JC. The effect of different files on the preparation shape of severely curved canals. Int Endod J. 1985;18:1-7.

⁵³ Dolan DW, Craig RG. Bending and torsion of endodontic files with rhombus cross sections. J Endod. 1982;8:260-4.

⁵⁴ Brau Aguadé E, Canalda Sahli C, Berástegui Jimeno E. Cutting efficiency of k-files manufactured with different metallic alloys. Endod Dent Traumatol 1996;12:286-288.

⁵⁵ Canalda Salí C, Braw Aguade E. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. Masson. 2006;176-180.

⁵⁶ James A. Wealleans, Timothy C. Kirkpatrick, Richard E. Rutledge. The effects of dentin debris on the cyclic fatigue resistance of several nickel titanium rotary systems. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;112(3):390-5.

⁵⁷ Gambarini G, Grande NM, Plotino G, Somma F, Garala M, De Luca M, Testarelli L. Fatigue resistance of engine-driven rotary nickel-titanium instruments produced by new manufacturing methods. J Endod. 2008;34(8):1003-5.

TESIS DOCTORAL

diseño de la punta⁵⁸, confiere una mejora en sus propiedades, minimizando errores de procedimiento y el riesgo de fractura de los instrumentos. Esto da lugar a la aparición de numerosos sistemas para la instrumentación mecánica. Estos instrumentos, representan un nuevo enfoque para la preparación rápida de los conductos, permitiendo el uso de limas rotatorias en conductos radiculares curvos⁵⁹. La utilización de estos sistemas facilita su preparación, reduce el tiempo de trabajo y la fatiga del profesional y del paciente^{60,61}.

Los instrumentos de NiTi trabajan, en su mayoría, por rotación horaria continua y utilizan la técnica de preparación coronoapical. En ésta técnica se realiza la instrumentación del tercio coronal y medio antes de preparar la zona apical del conducto. Su objetivo es evitar interferencias de la lima en los dos tercios coronales del conducto, para acceder más libremente al tercio apical. Con ella se consigue la descontaminación progresiva del contenido radicular y se facilita su posterior obturación⁶². No obstante, existen sistemas, como Mtwo®, que utilizan secuencialmente todos los instrumentos

⁵⁸ Bonaccorso A, Cantatore G, Condorelli GG, Schäfer E, Tripi TR. Shaping ability of four nickel-titanium rotary instruments in simulated S-shaped canals. J. Endod. 2009;35:883-6.

⁵⁹ Schäfer E, Oitzinger M. Cutting efficiency of five different types of rotary nickel-titanium instruments. J. Endod. 2008;34:198-200.

⁶⁰ Morgan LF, Montgomery S. An evaluation of the crown-down pressureless technique. J Endod. 1984;10:491-8.

⁶¹ Fogarty TJ, Montgomery S. Effect of preflaring on canal transportation. Evaluation of ultrasonic, sonic, and conventional techniques. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1991;72:345-50.

⁶² Canalda Salí C, Braw Aguade E. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. Masson 2006. Cap 15.p.178.

a longitud de trabajo, lo que se denomina “técnica de longitud simple”⁶³.

Recientemente, se ha introducido el movimiento alternante, horario-antihorario, en nuevos sistemas de instrumentación para la preparación mecánica del conducto radicular. Es el caso de los sistemas Reciproc® y WaveOne™, que utilizan una única lima para la instrumentación de todo el conducto. Su movimiento alternante, reduce la fatiga cíclica del instrumento, respecto a las limas que utilizan el movimiento de rotación horaria continua⁶⁴.

Sistemas rotatorios Mtwo®, Twisted Files™ y WaveOne™

El sistema Mtwo^{65,66} (VDW, Munich, Alemania) utiliza todos los instrumentos a longitud de trabajo. Ofrece mejoras en la eficiencia de corte⁶⁷, demostrando una mejor limpieza, eficacia y capacidad de conformación en raíces curvas^{68,69}. El sistema Twisted Files

⁶³ Schäfer E, Erler M, Dammaschke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals. Int Endod J. 2006;39:196-202.

⁶⁴ De-Deus G, Moreira EJ, Lopes HP, Elias CN. Extended cyclic fatigue life of F2 ProTaper instruments used in reciprocating movement. Int Endod J. 2010;43:1063-8.

⁶⁵ Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, Malagnino VA. SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. Int Endod J. 2004;37:832-839.

⁶⁶ Plotino G, Grande NM, Falanga A, Di Giuseppe IL, Lamorgese V, Somma F. Sentine removal in the coronal portion of root canals following two preparation techniques. Int Endod J. 2007;40:852-858.

⁶⁷ Schäfer E, Oitzinger M. Cutting efficiency of five different types of rotary nickel-titanium instruments. J. Endod. 2008;34:198-200.

⁶⁸ Schäfer E, Erler M, Dammaschke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments: part 1—shaping ability in simulated curved canals. Int Endod J. 2006a;39:196-202.

TESIS DOCTORAL

(SybronEndo, California, USA) presenta características innovadoras en cuanto a diseño, técnica de fabricación, número de limas y aleación de las mismas. La técnica de instrumentación de las limas TF es corono-apical y éstas han mostrado una mayor resistencia a la fatiga cíclica que otras limas NiTi^{70,71}, manteniendo el conducto original centrado y minimizando los errores de procedimiento a nivel apical⁷². El sistema WaveOne (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), recientemente comercializado, está fabricado con aleación de NiTi M-Wire (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA). Es un sistema de lima única, que reduce la fatiga cíclica del instrumento y disminuye la incidencia de fractura del mismo^{73,74}.

El sistema **Mtwo** se compone de ocho instrumentos básicos que varían en tamaño y forma: 10/.04, 15/.05, 20/.06, 25/.06, 25/.07, 30/.05; 35/.04 y 40/.04. Recientemente, el fabricante ha introducido limas accesorias para el ensanchado apical, 45/.04, 50/.04 y 60/.04 y limas 30/.06, 35/.06 y 40/.06 para mejorar la obturación con técnicas termoplásticas. Los instrumentos rotatorios Mtwo se

⁶⁹ Schäfer E, Erler M, Dammashke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments: part 2—cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J.* 2006b;39:203–12.

⁷⁰ Kim HC, Yum J, Hur B, Cheung GS. Cyclic fatigue and fracture characteristics of ground and twisted nickel-titanium rotary files. *J Endod.* 2010;36:147–52.

⁷¹ Rodrigues RC, Lopes HP, Elias CN, Amaral G, Vieira VT, De Martin AS. Influence of different manufacturing methods on the cyclic fatigue of rotary nickel-titanium endodontic instruments. *J Endod.* 2011;37:1553–7.

⁷² Gergi R, Rjeily JA, Sader J, Naaman A. Comparison of Canal Transportation and Centering Ability of Twisted Files, Pathfile-ProTaper System, and Stainless Steel Hand K-Files by Using Computed Tomography. *J Endod.* 2010;36:904–907.

⁷³ Gambarini G, Grande NM, Plotino G et al. Fatigue resistance of engine-driven rotary nickel-titanium instruments produced by new manufacturing methods. *J Endod.* 2008; 34:1003–5.

⁷⁴ Gutmann JL, Gao Y. Alteration in the inherent metallic and surface properties of nickel-titanium root canal instruments to enhance performance, durability and safety: a focused review. *Int Endod J.* 2012;45:113–28.

utilizan con técnica de longitud única⁷⁵ sin ningún tipo de preparación previa de la parte coronal de los conductos.

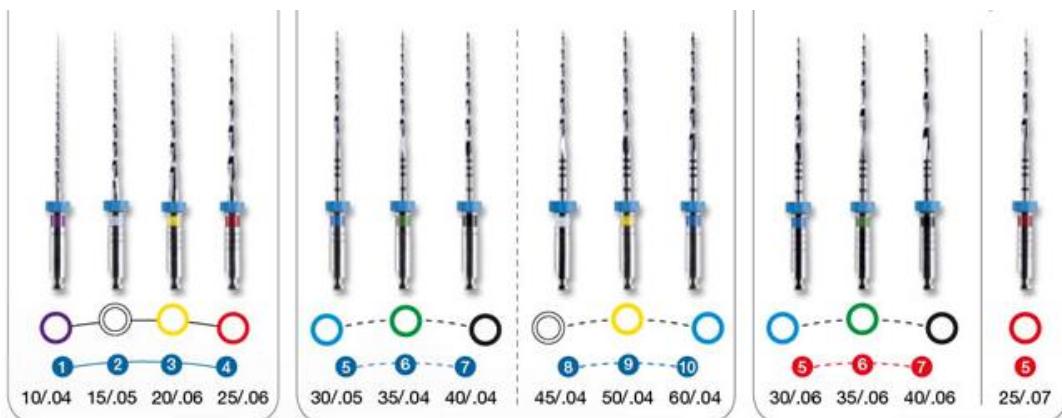


Fig. 2-1: Sistema rotatorio Mtwo. Secuencia completa.

Todos los instrumentos se introducen en el conducto hasta alcanzar la longitud de trabajo establecida, sin presión apical y con acción de cepillado, para eliminar de forma selectiva las interferencias y permitir un avance progresivo hacia la zona del ápice. Los instrumentos se utilizan durante unos segundos, con un movimiento de presión lateral para obtener un corte circunferencial⁷⁶.

Su diseño transversal tiene forma de S, con punta de seguridad no cortante, un ángulo de corte positivo con dos filos y un paso de espira aumentado desde la punta hasta la parte coronal del

⁷⁵ Plotino G, Grande NM, Sorci E, Malagnino VA, Somma F. A comparison of cyclic fatigue between used and new Mtwo NiTi rotary instruments. Int Endod J. 2006;39:716-23.

⁷⁶ Plotino G, Grande NM, Falanga A, Di Giuseppe IL, Lamorgese V, Somma F. sentine removal in the coronal portion of root canals following two preparation techniques. Int Endod J. 2007;40:852-858.

instrumento. Este diseño evita la rosca en rotación continua y reduce el transporte de detritus hacia el ápice⁷⁷.

Los instrumentos rotatorios del sistema **Twisted Files** se fabrican mediante trenzado, lo que mejora su elasticidad, aumenta la resistencia a la fatiga cíclica, y reduce la formación de microfracturas en la estructura del metal⁷⁸. Tienen una sección transversal triangular, con una distancia variable entre las estrías de corte de acuerdo a las conicidades disponibles: .04, .06, .08, .10, y .12 con un tamaño de punta 25, en longitudes de 23 y 27 mm. Actualmente, se han incorporado limas con calibres mayores, 30/.06, 35/.06, 40/.04.



Fig. 2-2: Secuencia básica TF (25/.12, 25/.10, 25/.08, 25/.06, 25/.04) y secuencia accesoria (30/.06, 35/.06, 40/.04)

La lima es fabricada de una sola pieza, en níquel titanio, con lo que se eliminan los movimientos excéntricos durante la rotación. Su sección transversal es triangular y son variables el ancho y la profundidad de las

⁷⁷ Uroz-Torres D, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Effectiveness of a manual glide path on the preparation of curved root canals by using Mtwo rotary instruments. J Endod. 2009;35:699-702.

⁷⁸ James A. Wealleans, Timothy C. Kirkpatrick, Richard E. Rutledge. The effects of dentin debris on the cyclic fatigue resistance of several nickel titanium rotary systems. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;112(3):390-5.

estrías de corte así como el ángulo helicoidal. En su proceso de fabricación, la torsión del metal, el tratamiento de la fase I de calor y el acondicionamiento de su superficie, aumentan significativamente la flexibilidad y la resistencia del instrumento a la fatiga cíclica. De esta forma, mantienen la morfología inicial del conducto, con una preparación centrada y se reduce al mínimo el transporte del mismo, incluso en conductos radiculares con curvaturas severas⁷⁹.

El sistema **WaveOne**, utiliza limas fabricadas de Ni-Ti, aleación de M-Wire (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK), que se crea mediante un innovador proceso de tratamiento térmico⁸⁰. Consta de tres limas de un solo uso: 21/.06, 25/.08 y 40/.08, siendo la primera para conductos finos, la segunda para la mayoría de los conductos y la tercera para conductos de gran tamaño. Están diseñadas para dar forma al conducto radicular, de principio a fin, con una rotación de acción de corte inverso (170° en sentido antihorario y 50° horario), utilizando un motor preprogramado. El movimiento alterno alivia el estrés del instrumento por el especial sentido antihorario, ya que el instrumento gira en un sentido y luego cambia de dirección antes de completar una rotación completa⁸¹ y los movimientos de sentido horario reducen el riesgo de fatiga cíclica causado por la tensión y

⁷⁹ Gergi R, Rjeily JA, Sader J, Naaman A. Comparison of Canal Transportation and Centering Ability of Twisted Files, Pathfile-ProTaper System, and Stainless Steel Hand K-Files by Using Computed Tomography. *J Endod.* 2010;36:904-907.

⁸⁰ Gutmann JL, Gao Y. Alteration in the inherent metallic and surface properties of nickel-titanium root canal instruments to enhance performance, durability and safety: a focused review. *Int Endod J.* 2012;45:113-28.

⁸¹ Wan J, Rasimick BJ, Musikant BL, Deutsch AS. A comparison of cyclic fatigue resistance in reciprocating and rotary nickel-titanium instruments. *Aust Endod J.* 2011;37:122-7.

compresión⁸². Se cree que este movimiento alternativo, en última instancia, podría incrementar la vida útil del instrumento^{83,84}. Las limas tienen una sección modificada triangular convexa, en su extremo apical, y una sección transversal triangular convexa en el extremo coronal⁸⁵. Sólo es necesaria una única lima para proporcionar al conducto un tamaño y conicidad adecuados⁸⁶. No obstante, al usar un solo instrumento para la preparación del conducto se generaría más tensión en el mismo, durante la instrumentación mecánica, en comparación con una instrumentación de una secuencia completa de instrumentos, lo que podría presuponer el aumento de defectos dentinarios en relación a otros sistemas, pero tras el estudio que realizaron Bürklein y cols.⁸⁷ no se encontraron diferencias significativas que lo corroborasen.

⁸² De-Deus G, Brand~aoMC, Barino B, Di Giorgi K, Fidel RA, Luna AS. Assessment of apically extruded debris produced by the single-file ProTaper F2 technique under reciprocating movement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110:390–4.

⁸³ De-Deus G, Moreira EJ, Lopes HP, Elias CN. Extended cyclic fatigue life of F2 ProTaper instruments used in reciprocating movement. *Int Endod J.* 2010;43:1063–8.

⁸⁴ Varela-Patino P, Ibanez-Parraga A, Rivas-Mundina B, Cantatore G, Otero XL, Martin-Biedma B. Alternating versus continuous rotation: a comparative study of the effect on instrument life. *J Endod.* 2010;36:157–9.

⁸⁵ Webber J, Machtou P, Pertot W, Kuttler S, Ruddle C, West J. The WaveOne single-file reciprocating system. *Roots.* 2011;1:28–33.

⁸⁶ Berutti E, Chiandussi G, Paolino DS, Scotti N, Cantatore G, Castellucci A, Pasqualini D. Canal shaping with WaveOne Primary reciprocating files and ProTaper system: a comparative study. *J Endod.* 2012;38(4):505–9.

⁸⁷ Bürklein S, Tsotsis P, Schäfer E. Incidence of dentinal defects after root canal preparation: reciprocating versus rotary instrumentation. *J Endod.* 2013; 39(4):501–4.



Fig. 2-3: Sistema WaveOne. Secuencia completa 21/.06 25/.08 40/.08.

2.2.2. Irrigación de conductos radiculares

La instrumentación de conductos radiculares no elimina completamente su contenido, siendo necesaria la irrigación para la limpieza y desinfección de los mismos, sobre todo en los conductos laterales y accesorios.

Los objetivos de la irrigación han sido sistematizados por diferentes autores y son^{88,89}:

- ✓ Disolución del tejido pulpar vital o necrótico.
- ✓ Limpieza de las paredes de los conductos para eliminar los residuos que las cubren y que taponan la entrada de los túbulos dentinarios, así como hacer fluir hacia fuera del conducto radicular los detritus formados durante la instrumentación.
- ✓ Destrucción de las bacterias y neutralización de sus productos tóxicos y componentes metabólicos.

⁸⁸ Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J. 1985;18:35-40.

⁸⁹ Canalda Sahli C, Brau Aguadé E. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. 2^a ed. Barcelona: Masson. 2006;p.188.

TESIS DOCTORAL

- ✓ Lubricar los instrumentos para facilitar su paso y su capacidad de corte.

Las propiedades deseables para las soluciones irrigadoras incluyen^{90,91}:

1. Actividad antimicrobiana.
2. Disolvente de tejido orgánico e inorgánico.
3. Efecto lubricante.
4. Baja tensión superficial.
5. Biocompatibilidad.
6. Acción rápida.
7. Soluble en agua.

Han sido muchas las soluciones irrigadoras propuestas para su uso en endodoncia, y la gran mayoría han sido testadas *in vitro* para conocer su actividad frente a bacterias en suspensión o planctónicas⁹². Sin embargo, esta forma de crecimiento no representa las condiciones reales ya que las bacterias se organizan formando biopelículas en las paredes de los conductos radiculares⁹³. Esto podría tener una repercusión clínica importante, ya que se ha demostrado que las bacterias que crecen en biopelículas pueden ser

⁹⁰ Basrani B, Robinson C. Irrigación y aspiración. En Basrani E, Cañete M, Blank A, ed. Endodoncia Integrada. Colombia: Actualidades Médico Odontológicas. 1999;p:129-141.

⁹¹ Canalda Sahli C, Brau Aguadé E. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. 2^a ed. Barcelona: Masson. 2006;p.188.

⁹² El Karim I, Kennedy J, Hussey D. The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;103:560-9.

⁹³ Ramachandran Nair PN. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. J Endod. 1987;13:29-39.

mil veces más resistentes a los antimicrobianos que cuando lo hacen en suspensión⁹⁴.

Soluciones antimicrobianas

Hipoclorito de sodio

Durante la instrumentación se utilizan, como irrigantes, diferentes soluciones con actividad antimicrobiana. Actualmente, la solución irrigadora de elección en endodoncia continúa siendo el **hipoclorito de sodio** (NaOCl) debido, por una parte, a su capacidad para disolver el tejido orgánico, tanto vital como necrótico^{95,96} y, por otra, a su capacidad bactericida frente a microorganismos planctónicos y en biopelículas⁹⁷. El grupo HOCl ácido hipocloroso ejerce su efecto mediante el proceso de oxidación de los grupos sulfidrilo dentro del sistema de enzimas bacterianas, alterando así el metabolismo del microorganismo⁹⁸, dando como resultado la muerte de las células bacterianas⁹⁹. Es un compuesto halogenado cuyas funciones primordiales son disolver los restos de tejido pulpar y destruir

⁹⁴ Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284:1318-22.

⁹⁵ Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*. 1985;18:35-40.

⁹⁶ Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Texeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2001;34:424-8.

⁹⁷ Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medication. *J Endod*. 2005;31:30-6.

⁹⁸ Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal in vitro. *Int Endod J*. 1997;30:279-82.

⁹⁹ Baumgartner IC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endodontics* 1992;18:605-12.

TESIS DOCTORAL

bacterias neutralizando sus metabolitos y productos antigenicos¹⁰⁰. Además posee un amplio espectro antibacteriano, es esporicida y viricida, económico y fácilmente disponible, lo que llevó a Cunningham y cols.¹⁰¹ a proponerlo como el irrigante más eficaz. Una de sus mayores desventajas es que no elimina la capa de barrillo dentinario¹⁰². Se ha utilizado a diferentes concentraciones, desde 0,5% al 6%. Otras variables como la concentración, la temperatura y el pH pueden afectar la eficacia de este agente y su toxicidad en casos de extrusión periapical accidental^{103,104}. Su actividad antimicrobiana es proporcional a la concentración del fármaco¹⁰⁵, así como su toxicidad. Existen numerosas investigaciones acerca de la actividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio frente a microorganismos en suspensión y en biopelículas. Algunas defienden su uso a concentraciones elevadas¹⁰⁶, a pesar de su toxicidad, mientras que otras demuestran su eficacia a concentraciones más bajas¹⁰⁷.

¹⁰⁰ Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J.* 1985;18:35-40.

¹⁰¹ Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980;49(2):175-7.

¹⁰² Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod.* 1992;18(12):605-12.

¹⁰³ Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation:literature review and case reports. *Int Endod J.* 2000;33:186-93.

¹⁰⁴ Hales JJ, Jackson CR, Everett AP, Moore SH. Treatment protocol for the management of a sodium hypochlorite accident during endodontic therapy. *Gen Dent.* 2001;49:278-81.

¹⁰⁵Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Texeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of Enterococcus faecalis. *Int Endod J.* 2001;34:424-8.

¹⁰⁶Carson KR, Goodell GG, McClanahan SB. Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. *J Endod.* 2005;31(6):471-3.

¹⁰⁷ Zehnder M, Kosicki D, Luder H, Sener B, Waltimo T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(6):756-62.

Clorhexidina

Se desarrolló en Inglaterra a mediados del siglo XX en un intento de conseguir sustancias activas frente a los virus, pero debido a su baja eficacia se rechazó. Fue años más tarde, cuando resurgió como agente antibacteriano.

Clorhexidina (CLX) es una bisguanida catiónica sintética con una naturaleza química que favorece su eficacia, seguridad y que induce escasos efectos secundarios locales^{108,109,110}. Es una sustancia con un amplio espectro de acción actuando sobre un gran número de bacterias orales, principalmente frente a gram positivas, que son las que predominan en las infecciones endodónticas primarias. No es viricida ni esporicida, y su actividad frente a hongos es relativa¹¹¹.

La eficacia de CLX en endodoncia depende de su forma presentación y de la concentración. En solución ha demostrado ser más efectiva que en gel¹¹².

Su concentración puede variar desde 0,12%, actuando más como bacteriostática para el control de placa, hasta 2% cuyo mecanismo principal es bactericida¹¹³, siendo más útil para el tratamiento de conductos como solución irrigadora final. Su acción es rápida y

¹⁰⁸ Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. J Endod. 1995;21(10):513-5.

¹⁰⁹ Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. Int Endod J. 2003;36(2):75-85.

¹¹⁰ Marley JT, Ferguson DB, Hartwell GR. Effects of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: short-term results. J Endod. 2001;27(12):775-8.

¹¹¹ Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. Scand J Dent Res. 1977;85(4):255-65.

¹¹² Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Texeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2001;34:424-8.

¹¹³ Zamany A, Safavi K, Spångberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;96(5):578-81.

duradera debido a la elevada substantividad¹¹⁴, la cual puede definirse como la capacidad de unirse a diferentes zonas de la cavidad oral como son la mucosa oral o la placa dental, para liberarse lentamente de forma activa manteniendo niveles terapéuticos. Su toxicidad es escasa o nula¹¹⁵ y se inactiva en presencia de materia orgánica. Como es habitual en las soluciones antimicrobianas, CLX mantiene su actividad frente a biopelículas, aunque necesita una mayor concentración y/o tiempo de contacto¹¹⁶.

Cetrimida

Es un surfactante catiónico derivado del amonio cuaternario. Posee capacidad emulsionante, detergente y actividad bactericida. Presenta baja tensión superficial promoviendo la difusión de la solución irrigadora dentro del conducto radicular y hacia los túbulos dentinarios, ya que actúa disminuyendo la tensión superficial de la solución¹¹⁷.

Agentes quelantes

El uso de soluciones ácidas y quelantes, como la sal disódica del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), el ácido cítrico (AC) o el

¹¹⁴ Dametto FR, Ferraz CC, de Almeida Gomes BP, Zaia AA, Texeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against Enterococcus faecalis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;99:768-72.

¹¹⁵ Jeanssonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. J Endod. 1994;20:276-8.

¹¹⁶ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35(5):711-4.

¹¹⁷ Giardino L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. J Endod. 2006;32:1091-3.

ácido maleico (AM), se utilizan para eliminar el barrillo dentinario de los conductos radiculares instrumentados y facilitar la adhesión de selladores endodónticos basados en resina¹¹⁸. De esta forma, la combinación de NaOCl con soluciones ácidas, a pesar de que afectan a su estabilidad, puede aumentar su efecto antimicrobiano¹¹⁹.

Ácido etilendiamino tetraacético (EDTA)

Es un agente quelante que fue introducido como solución irrigadora en endodoncia por Nygaard-Ostby¹²⁰. Las concentraciones de EDTA más usadas son del 15-17% con un pH de 5-7. Es efectivo en la remoción de la capa de barrillo dentinario, contribuyendo a la correcta desinfección del conducto radicular¹²¹. Además EDTA posee ciertas propiedades antibacterianas que dependen de su concentración y de su pH. El uso de una concentración de EDTA al 10% provoca la formación de una zona de inhibición del crecimiento bacteriano y a concentraciones menores (0,03%- 1%) provoca un efecto antibacteriano muy reducido o nulo¹²². Se ha investigado también una cierta toxicidad de EDTA, cuando se produce una

¹¹⁸ Hayashi M, Takahashi Y, Hirai M, Iwami Y, Imazato S, Ebisu S. Effect of endodontic irrigation on bonding of resin cement to radicular dentin. Eur J Oral Sci. 2005;113(1):70-6.

¹¹⁹ Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, Batista de Faria-Júnior N, Hungaro-Duarte MA, Kuga MC, Tanomaru-Filho M, Bauru, SP. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;112(3):396-400.

¹²⁰ Nygaard-Östby B. Chelation in root canal therapy: Ethylenediamine tetra-acetic acid for cleansing and widening of root Canals. Odontol Tskr. 1957;65:3-11.

¹²¹ Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;94(6):658-66. Review.

¹²² Russell A, Hugo W, Ayliffe G, ed. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization. 3º Ed. Oxford: Blackwell Science: 1999.p:124-48.

extrusión apical durante el tratamiento endodóntico, ya que puede modificar e interactuar en la modulación de los mecanismos inflamatorios involucrados en las lesiones periapicales, incluso a concentraciones menores que las usadas en endodoncia (10%), además de provocar una descalcificación irreversible de hueso perirradicular. Este efecto es dependiente tanto de la dosis como del tiempo^{123,124}.

Ácido Cítrico

Es una solución irrigadora que favorece la instrumentación de conductos estrechos y calcificados. La dentina se reblandece cambiando sus características y se incrementa el diámetro de los túbulos dentinarios expuestos^{125,126}. Tiene la capacidad de eliminar la capa de barrillo dentinario. Además, como el AC se encuentra de forma natural en el organismo, es más compatible desde el punto de vista biológico que otros ácidos. Según un estudio de Yamaguchi y cols.¹²⁷, el AC tiene una capacidad antibacteriana y quelante mayor que el EDTA a todas las concentraciones probadas. También se ha demostrado que posee capacidad antibacteriana frente a

¹²³ Segura JJ, Calvo JR, Guerrero JM, Jimenez-Planas A, Sampedro C, Llamas R. EDTA inhibits in vitro substrate adherence capacity of macrophages: endodontic implications. J Endod. 1997;23(4):205-8.

¹²⁴ Segura JJ, Calvo JR, Guerrero JM, Sampedro C, Jimenez A, Llamas R. The disodium salt of EDTA inhibits the binding of vasoactive intestinal peptide to macrophage membranes: endodontic implications. J Endod. 1996;22(7):337-40.

¹²⁵ Yamaguchi M, Yoshida K, Suzuki R, Nakamura H. Root canal irrigation with citric acid solution. J Endod. 1996;22(1):27-9.

¹²⁶ Serper A, Calt S, Dogan AL, Guc D, Ozcelik B, Kuraner T. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. J Oral Sci. 2001;43(4):233-8.

¹²⁷ Yamaguchi M, Yoshida K, Suzuki R, Nakamura H. Root canal irrigation with citric acid solution. J Endod. 1996;22(1):27-9.

microorganismos presentes en el conducto radicular, pero no frente a biopelículas de *E. faecalis*¹²⁸.

2.3 Eficacia de los sistemas de instrumentación en el control de la infección

El control de la infección depende, además de la solución irrigadora, del sistema de instrumentación utilizado. Los estudios que evalúan la eficacia en la reducción bacteriana pueden dividirse en dos grupos. Estudios *in vivo*, en los cuales todo el proceso se realiza en la boca del paciente y *ex vivo*, también denominados por algunos autores como *in vitro*. El nombre se debe a que se suelen realizar en dientes extraídos, que se someten a una infección controlada y todo el proceso de instrumentación y evaluación se hace fuera de la cavidad oral.

Para realizar la revisión de los estudios que evalúan la eficacia antimicrobiana de los sistemas, se realizó una búsqueda medline (1990-2014) con las siguientes estrategias de búsqueda: *rotary system* AND *Enterococcus faecalis*; *rotary system* AND *bacteria*; *rotary system* AND *antimicrobial efficacy*; *rotary system* AND *hand file*; *Enterococcus faecalis* AND *Mtwo*; *Enterococcus faecalis* AND *Twisted File* y *Enterococcus faecalis* AND *WaveOne*. Se seleccionaron aquellos artículos en los que se comparaba la eficacia en el control de la infección de, al menos, dos sistemas de instrumentación. En la tabla 2-5 se muestran los dos únicos estudios clínicos que evalúan la

¹²⁸ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35(5):711-4.

eficacia de los sistemas. En la tabla 2-6 se recogen los estudios realizados *ex vivo* sobre dientes extraídos.

Tabla 2-1. Estudios clínicos que evalúan *in vivo* la eficacia de los sistemas de instrumentación en el control de la infección endodóntica.

Referencia	Material y métodos	Resultados y conclusiones
Roças IN, y cols., 2013 ¹²⁹	<p>Estudio clínico en dientes unirradiculares con periodontitis. Compara 2 métodos: instrumentación manual y rotatoria con limas NiTi. Irrigante: NaOCl al 2,5%.</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel antes y después de la instrumentación.</p> <p>Evaluación mediante análisis cuantitativo y cualitativo por reacción en cadena de la polimerasa y determinación de cultivo positivo.</p>	No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos métodos en la cuantificación de bacterias y % cultivos positivos.
Dalton y cols., 1998 ¹³⁰	<p>Estudio clínico en conductos radiculares de molares con infección. Compara dos técnicas de instrumentación: rotatoria (Profile) <i>versus</i> manual. Solución irrigadora: NaOCl al 1%</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel antes (S1) y durante la instrumentación (S2 y S3). Toma final con limas K (S4).</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como media y desviación estándar de la transformación logarítmica de UFCs.</p>	Reducción significativa de bacterias, pero sin diferencias entre los dos métodos usados.

*UFC: Unidades Formadoras de Colonias

¹²⁹ Rôças IN, Lima KC, Siqueira JF Jr. Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation—a clinical study. *Int Endod J.* 2013;46(7):681-7.

¹³⁰ Dalton CB, Ørstavik D, Phillips C. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod.* 1998;24:763-767.

Tabla 2-2. Estudios que evalúan *ex vivo* la eficacia de los sistemas de instrumentación en el control de la infección endodóntica.

Referencia	Material y métodos	Resultados y conclusiones
Siqueira JF Jr y cols., 2013¹³¹	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de molares infectados 30 días con <i>E. faecalis</i>. Compara 3 técnicas de instrumentación: SAF, Reciproc y TF. Irrigante: NaOCl al 2,5%.</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel antes y después de la instrumentación.</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs y % reducción.</p>	Reducción significativa de bacterias tras la instrumentación. No hubo diferencias entre las 3 técnicas.
Machado ME y cols., 2013¹³²	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de molares infectados 21 días con <i>E. faecalis</i>. Compara 4 técnicas de instrumentación: (WaveOne, Reciproc, ProTaper y Mtwo) <i>versus</i> instrumentación manual. Irrigante: NaOCl al 2,5%.</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel antes de la instrumentación (S1). Toma después (S2) y tras 7 días (S3) con puntas de papel papel+ lima Hedström .</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs y % reducción</p>	Reducción significativa de bacterias tras la instrumentación. No hubo diferencias entre las 5 técnicas. Hubo mayor recrecimiento a los 7 días postinstrumentación.

¹³¹ Siqueira JF Jr, Alves FR, Versiani MA, Rôças IN, Almeida BM, Neves MA, Sousa-Neto MD. Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc, and twisted file systems. J Endod. 2013;39(8):1044-50.

¹³² Machado ME, Nabeshima CK, Leonardo MF, Reis FA, Britto ML, Cai S. Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. Int Endod J. 2013;46(11):1083-7.

TESIS DOCTORAL

Basmaci F y cols. 2013¹³³	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de PM infectados 24 horas con <i>E. faecalis</i>. Compara 3 técnicas de instrumentación: SAF, Reciproc, ProTaper y 3 soluciones irrigadoras: 1. PBS estéril, 2. NaOCl 5% seguido de EDTA 15% y 3. NaOCl 5% seguido de AM 7%.</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel antes y después de la instrumentación.</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como Log₁₀ UFCs y % reducción</p>	<p>Reducción significativa de bacterias en todos los grupos tras la instrumentación. No hubo diferencias entre las 3 técnicas.</p>
Dagna A y cols. 2012¹³⁴	<p>Estudio ex vivo en conductos uniradiculares infectados con <i>E. faecalis</i> y <i>C. albicans</i>. Compara 4 técnicas de instrumentación: Mtwo, Revo-S, Reciproc y OneShape. Irrigación: NaOCl y EDTA al 17%</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel después de la instrumentación.</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs.</p>	<p>No hubo diferencias significativas entre las técnicas.</p>
Paranjpe A y cols. 2012¹³⁵	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de PM infectados 30 días con <i>E. faecalis</i>. Compara 2 técnicas de instrumentación: SAF y Protaper. Irrigación: NaOCl al 6%</p> <p>Toma de muestra antes de la instrumentación: S1 (lima) y después S2a (puntas de papel) y S2b (lima).</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs.</p>	<p>Ambas técnicas de preparación fueron muy efectivas y sin diferencias significativas entre ellas.</p> <p>(Se observó una diferencia entre S2a y S2b cuando se usó el sistema ProTaper).</p>

¹³³ Basmaci F, Oztan MD, Kiyan M. Ex vivo evaluation of various instrumentation techniques and irrigants in reducing *E. faecalis* within root canals. Int Endod J. 2013;46(9):823-30.

¹³⁴ Dagna A, Arciola CR, Visai L, Selan L, Colombo M, Bianchi S, Poggio C. Antibacterial efficacy of conventional and single-use Ni-Ti endodontic instruments: an in vitro microbiological evaluation. Int J Artif Organs. 2012;35(10):826-31.

¹³⁵ Paranjpe A, de Gregorio C, Gonzalez AM, Gomez A, Silva Herzog D, Piña AA, Cohenca N. Efficacy of the self-adjusting file system on cleaning and shaping oval canals: a microbiological and microscopic evaluation. J Endod. 2012;38(2):226-31.

INTRODUCCIÓN

Nakamura VC, y cols., 2012¹³⁶	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de PM infectados 28 días con <i>E. faecalis</i> y <i>Candida albicans</i>. Compara 2 técnicas de instrumentación: manual <i>versus</i> rotatoria (Protaper universal). 4 subgrupos irrigación: 1. SS, 2. NaOCl 1%, 3. NaOCl 5,25% y 4. NaOCl 1% alternado AC 15%. Toma de muestra con puntas de papel antes de la instrumentación y puntas y virutas de dentina después. Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs y % reducción.</p>	<p>No hubo diferencias significativas entre las técnicas. SS y NaOCl 1% son menos efectivos que NaOCl 5,25% y método alternado</p>
Matos Neto M, y cols., 2012¹³⁷	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de caninos infectados 21 días con <i>E. faecalis</i>. Compara 3 técnicas de instrumentación: ProTaper rotatorio, ProTaper manual y K-files manual irrigando con AD. Toma de muestra con puntas de papel antes y después de la instrumentación. Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs y % reducción.</p>	<p>Porcentaje de reducción entre 75,61 (ProTaper rotatorio) y 92,48 (K-files manual) sin diferencias estadísticas significativas entre los grupos</p>
Gorduysus M, y cols., 2011¹³⁸	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de PM infectados 7 días con <i>E. faecalis</i>. Compara 4 técnicas de instrumentación: 3 rotatorias (ProTaper, K3, HeroShaper) y una manual (K-files) irrigando con SS. Toma de muestra con puntas de papel después de la instrumentación. Evaluación: reducción de UFCs respecto a un control</p>	<p>ProTaper >efectivo en reducir <i>E. faecalis</i> que los otros 3 sistemas</p>

¹³⁶ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013; 46(3):217-24.

¹³⁷ Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO. Effectiveness of three instrumentation systems to remove Enterococcus faecalis from root canals. Int Endod J. 2012;45:435-8.

¹³⁸ Gorduysus M, Nagas E, Torun OY, Gorduysus O. A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of Enterococcus faecalis from the root canal. Aust Endod J. 2011;37:128-33.

TESIS DOCTORAL

Siqueira JE y cols. 2010¹³⁹	<p>Estudio ex vivo en dientes de un solo conducto infectados 30 días con <i>E. faecalis</i>. Compara 2 técnicas de instrumentación BioRaCe <i>versus</i> SAF. Irrigación: NaOCl 2,5%.</p> <p>Toma de muestra antes de la instrumentación: S1 (puntas) y después S2a (puntas de papel) y S2b (lima).</p> <p>Evaluación: cualitativa (cultivo positivo y negativo) y cuantitativo (UFCs) y % de reducción</p>	<p>Las técnicas de instrumentación fueron muy efectivas. Aunque sin diferencias estadísticas significativas entre ellas, SAF consiguió menores valores de <i>E. faecalis</i>.</p>
Lima Machado y cols. 2010¹⁴⁰	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de molares infectados 72 horas con <i>E. faecalis</i>. Compara 2 técnicas de instrumentación rotatoria ProTaper <i>versus</i> Mtwo irrigando con AD estéril.</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel antes y después de la instrumentación.</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs y % reducción.</p>	<p>Reducción de <i>E. faecalis</i> no mostró diferencias significativas entre los 2 grupos.</p>
Singla M, y cols., 2010¹⁴¹	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de PM infectados 72 horas con <i>E. faecalis</i>. Compara 2 técnicas de instrumentación rotatoria: ProTaper, ProFile con 2 niveles de conicidad (40.04 y 40.06) y técnica manual. Irrigación con AD estéril.</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel después de la instrumentación.</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados, expresados como reducción de UFCs respecto a un control.</p>	<p>ProTaper y Profile 40.06 > efectivos en reducir <i>E. faecalis</i> que los otros dos grupos y sin diferencias significativas entre ellos.</p>

¹³⁹ Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Rôças IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. J Endod. 2010;36(11):1860-5.

¹⁴⁰ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. J Endod. 2010;36:1238-40.

¹⁴¹ Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in Enterococcus faecalis colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:105-10.

Chuste-Guillot y cols., 2006¹⁴²	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de dientes unirradiculares infectados 5 días con <i>Streptococcus sanguis</i>. Compara 3 sistemas rotatorios diferentes (GT, Hero, ProFile) con limas manuales (Flexofile). Irrigación con NaOCl al 3,5%. Toma de muestra con puntas de papel antes, durante (2 muestras) y después de la instrumentación. Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como densidad óptica.</p>	<p>Todas las técnicas consiguieron una importante reducción bacteriana. No hubo diferencias entre ellas.</p>
Berber VB, y cols. 2006¹⁴³	<p>Estudio ex vivo en conductos radiculares de molares infectados 21 días con <i>E. faecalis</i>. Compara 3 técnicas: híbrida con dos técnicas rotatorias, FOP-UNICAMP y Hero 642. Cuatro subgrupos de irrigación: 1. NaOCl al 5,25%, 2. NaOCl al 2,5%, 3. NaOCl al 0,5% y 4. SS estéril. Toma de muestra con puntas de papel antes de la instrumentación y puntas y virutas de dentina con fresa 720G después. Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como % reducción de UFCs.</p>	<p>No hubo diferencias significativas entre las técnicas de instrumentación. NaOCl al 5,25% > efectivo que las otras soluciones irrigadoras con las 3 técnicas.</p>
Colak M y cols. 2005¹⁴⁴	<p>Estudio in vitro en conductos radiculares infectados con <i>E. faecalis</i>. Compara 3 técnicas: 1 manual (limas Hedstroem) y 2 rotatorias (Giromatic y Hero 642). Irrigación con SS estéril. Toma de muestra con puntas de papel antes y después de la instrumentación. Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs.</p>	<p>No hubo diferencias significativas entre las técnicas usadas.</p>

¹⁴² Chuste-Guillot MP, Badet C, Peli JF, Perez F. Effect of three nickel-titanium rotary file techniques on infected root dentin reduction. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102(2):254-8.

¹⁴³ Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10-7.

¹⁴⁴ Colak M, Evcil S, Bayindir YZ, Yigit N. The effectiveness of three instrumentation techniques on the elimination of *Enterococcus faecalis* from a root canal: an in vitro study. J Contemp Dent Pract. 2005;6(1):94-106.

Siqueira y cols. 2002¹⁴⁵	<p>Estudio in vitro en conductos radiculares, de bicúspides de una sola raíz, infectados con <i>E. faecalis</i>. Compara varios grupos:</p> <p>A. Rotatoria alternada con 3 grupos de irrigación: 1. NaOCl 2,5% y AC 10%; 2. NaOCl 2,5% y CHX 2%, y 3. Control de SS.</p> <p>B. Rotatorio GT irrigando con 2,5% NaOCl.</p> <p>C. Instrumentación manual irrigando con NaOCl 2,5%</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel antes y después de la instrumentación.</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs.</p>	<p>Todas las técnicas consiguieron una importante reducción bacteriana. No hubo diferencias entre ellas, pero los grupos irrigados con antimicrobianos obtuvieron una reducción mayor que el control con SS.</p>
Siqueira y cols. 1999¹⁴⁶	<p>Estudio in vitro en conductos radiculares, de bicúspides de una sola raíz, infectados con <i>E. faecalis</i>. Compara 3 técnicas: 2 rotatorias (GT y Profile) y manual (Nitiflex). Irrigación con SS estéril.</p> <p>Toma de muestra con puntas de papel antes y después de la instrumentación.</p> <p>Evaluación mediante cultivo y resultados expresados como UFCs y % reducción.</p>	<p>Reducción significativa de bacterias con todas las técnicas > 90%.</p> <p>Técnica manual más efectiva en reducir <i>E. faecalis</i> que las rotatorias</p>

* PM: premolares; UFC: unidades formadoras de colonias; AM: ácido maleico; AD: agua destilada; SS: solución salina; AC: ácido cítrico; CLX: clorhexidina.

¹⁴⁵ Siqueira JF Jr, Rôças IN, Santos SR, Lima KC, Magalhães FA, de Uzedo M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. J Endod. 2002;28(3):181-4.

¹⁴⁶ Siqueira JF Jr, Lima KC, Magalhães FA, Lopes HP, de Uzedo M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. J Endod. 1999;25(5):332-5.

Un aspecto metodológico que tiene relevancia en la evaluación de la eficacia de los sistemas de instrumentación en el control de la infección, es cómo se realiza la toma de muestra. La mayoría de los estudios han realizado la toma de muestra utilizando puntas de papel, siendo éste un método sencillo aunque no recoge muestra de dentina de la pared de los conductos. Otra forma es tomar muestras de dentina intraconducto, utilizando fresas o limas que recogen material dentinario y con ello los microorganismos que hubiera en los conductillos. La eficacia de ambos métodos es uno de los objetivos del presente trabajo de investigación y ha sido objeto de estudio en varios trabajos cuyos resultados se exponen a continuación.

Dalton y cols.¹⁴⁷ realizaron la segunda recogida de muestra con puntas de papel y con fresas (S4), con el fin de remover el contenido del conducto radicular, pero sin encontrar diferencias entre las tomas realizadas. Berber y cols.¹⁴⁸ realizaron la segunda recogida de muestra mediante tres puntas de papel estériles y con fresas de diferente diámetro, para evaluar la presencia de células bacterianas dentro de los túbulos. No encontraron diferencias significativas entre ambos métodos. Siqueira JE y cols.¹⁴⁹, compararon dos métodos de recogida de muestra, puntas de papel *versus* lima K 20, siguiendo la misma sistemática en los grupos de estudio (BioRaCe y

¹⁴⁷ Dalton CB, Ørstavik D, Phillips C. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. J Endod. 1998;24:763-767.

¹⁴⁸ Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Enterococcus faecalis within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10-7

¹⁴⁹ Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Rôças IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. J Endod. 2010;36(11):1860-5.

TESIS DOCTORAL

SAF) encontrando que no había diferencias significativas entre los métodos. Paranjpe y cols.¹⁵⁰, compararon también la eficacia de los mismos métodos de recogida de muestra (puntas de papel *versus* lima K 20) en dos grupos de estudio, ProTaper y SAF. Los resultados no son homogéneos; con ProTaper, el número de UFCs obtenido es superior con puntas, mientras que con SAF no hubo diferencias significativas. Finalmente, en un estudio de Nakamura y cols.¹⁵¹, la recogida de muestra se realizó tanto con puntas de papel estériles, como con fresa cónica de diamante para cuantificar el crecimiento microbiano en el interior de los conductos, aunque no encontraron diferencias entre ambas.

¹⁵⁰ Paranjpe A, de Gregorio C, Gonzalez AM, Gomez A, Silva Herzog D, Piña AA, Cohenca N. Efficacy of the self-adjusting file system on cleaning and shaping oval canals: a microbiological and microscopic evaluation. J Endod. 2012;38(2):226-31.

¹⁵¹ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46(3):217-24.



MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Materiales

La muestra consistió en 76 premolares humanos unirradiculares. En la tabla 3-1 se han sistematizado todos los materiales que se han utilizado para realizar cada uno de los procedimientos de la parte práctica del trabajo, incluyendo información del fabricante.

Tabla 3-1. Materiales utilizados en todos los procedimientos

PROCEDIMIENTO	MATERIAL	FABRICANTE
CONSERVACIÓN DE LOS DIENTES	Solución de timol al 0.01 %	PANREAC QUÍMICA. Riera de Sant Cugat, 1. E-08110 Montcada i Reixac, Barcelona, España.
	Tubos de vidrio	Labortecnic S.A. Granada, España.
PREPARACIÓN DE LOS ESPECÍMENES	Máquina de corte Miniton	Struers, Copenhagen Dinamarca.
	Turbina Bella torque Multiflex 637B	KaVo Dental. GMBH & Co. KG, Bismarckring 39, 88400 Bibe-rach, Alemania.
	Fresa redonda de diamante #201R	Shofu, Kyoto, Japón.
	Limas K del nº 10 al 25	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza.
	Agua destilada	
	Jeringa	Kendall Syringe, Estambul, Turquía
	Ácido etilendiamino-tetraacético (EDTA) al 17%	Fórmula magistral
	NaOCl al 1 %	Fórmula magistral

TESIS DOCTORAL

INÓCULO BACTERIANO	Inóculo de <i>E.faecalis</i> CECT 795 de la Colección Española de Cultivos Tipo	CECT, Burjasot, Valencia, España.
	Caldo BHI	BHI, Scharlau Chemie S.A. Barcelona, España.
	Micropipeta 1000µl Micropipeta 100µl	Mikroliterpipette, Dr. Bruno Lange GmbH. Berlin, Alemania.
	Puntas de pipeta	Daslab, Barcelona, España.
	Eppendorf 1.5 cc	Eppendorf Ibérica S.L.U. 28 700 San Sebastián de los Reyes, Madrid, España
INSTRUMENTACIÓN DEL CONDUCTO RADICULAR	Limas Mtwo	VDW, Munich, Alemania.
	Limas Twisted Files	SybronEndo®, Orange, CA USA.
	Limas Wave One	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza.
	Regla endodoncia	Endo M- Block Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza.
	Motor WaveOne™	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza.
IRRIGACIÓN DEL CONDUCTO RADICULAR	Hipoclorito sódico al 5,25%	PANREAC QUIMICA, S.A.U. C/Garraf, 2 E- 08211 Castellar del Vallès, Barcelona, España.
	Agua destilada estéril	

INCLUSIÓN DE LOS ESPECÍMENES	Silicona base Normosil	Normosil putty Adición normal. Laboratorios Normon, Madrid, España.
	Tubos polipropileno 4 cc.	Biosigma CL4ARIPS, Italia.
	Jeringa (3 ml)	Kendall Monoject, Syringe, Estambul, Turquía
	Cianocrilato	Loctite Super Glue-3, Hankel Adhesivos y Tecnologías S.L. Córcega 480-492,08025 Barcelona, España.
TOMA DE MUESTRA Y EVALUACIÓN	Puntas de papel del nº 20	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza.
	Limas Hedström	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza.
	Micropipeta 1000µl Micropipeta 100µl Micropipeta 10µl	Mikroliterpipette, Dr. Bruno Lange GmbH. Berlin, Alemania.
	Puntas de pipeta	Daslab, Barcelona, España.
	Eppendorf 1.5 cc	Eppendorf Ibérica S.L.U. 28 700 San Sebastián de los Reyes, Madrid, España
	Placas microtitter de	Nunc 163320. Roskilde, Dinamarca.

TESIS DOCTORAL

INFRAESTRUCTURA Y OTROS MATERIALES	Campana de Flujo Laminar.	Telstar S.A. Modelo Bio-II-B, Tarrasa, España
	Vórtex	VELP Scientifica SRL Vía Stazione 16 20865 Uamate (MB), Italia.
	Placa de Petri	Soria Genlab, S.A. Valdemoro, Madrid.
	Estufa	Raypa S.L. Pol.Ind. "Els Bellots" 08227 Terrasa, Barcelona, España.
	Pinzas	ASA dental. Massarosa, Lucca, Italia.
	Cureta	Gracey ¾, Hu-Friedy Europe, Zweigniederlassung Deutschland, Alemania.
	Esterilizador de bolas	Tecnomedica 20010 Via Momte Bernina y Barregio Mi- Italia.
	Frigorífico	LG Multi Air Flow 804 TRVM 02223, Electronics España.
	Autoclave	Raypa R. Espinar, S.L. Avda. del Vallés, 322 Pol. Ind. "Els Bellots" 08227 Terrassa, Barcelona, España.
OTROS MATERIALES	Mango de bisturí	Bontempi, C/ Fernando Pessoa 9 - 08030 Barcelona, España.
	Hoja de bisturí del número 15	Aesculap Inc, 3773 Corporate Parkway Center Valley, PA 18034. Estados Unidos.
	Rotuladores indelebles	Staedtler Mars GmbH & Co. Moosäckerstraße 390427 Nürnberg, Alemania.

3.2 Método

En este trabajo se ha seguido un protocolo que ha sido previamente aprobado por el comité de ética de la Universidad de Granada (Código nº 438).

3.2.1. Selección de la muestra

En la selección de los 76 premolares humanos unirradiculares se excluyeron aquellos con tratamiento de conductos previo, sin integridad de la corona o con presencia de caries o fracturas. Además, se eliminaron los que tenían una longitud disonante, tanto por exceso como por defecto, de forma que toda la muestra tenía una longitud de raíz muy similar. Se realizó una radiografía a todos los dientes, para confirmar la presencia de un sólo conducto radicular, y se limpiaron de sarro y restos orgánicos con la ayuda de una cureta. Los dientes se conservaron en timol al 0.1%, hasta el momento de su utilización. Setenta y dos dientes fueron aleatoriamente asignados a los diferentes grupos de estudio y cuatro especímenes, no instrumentados y no infectados, se usaron como grupo control de esterilidad durante todo el período de estudio.



Figura 3-1. Premolares uniradiculares utilizados en el estudio.

3.2.2. Preparación de los especímenes

Los dientes se seccionaron a nivel de la unión amelocementaria, con un disco de corte, para obtener una longitud radicular de 15 mm (figura 3-2). Para confirmar la permeabilidad del conducto radicular se introdujo una lima K del número 10 y la longitud de trabajo se estableció restando un milímetro a la longitud obtenida tras visualizar la salida de la lima por el foramen apical (figura 3-3).

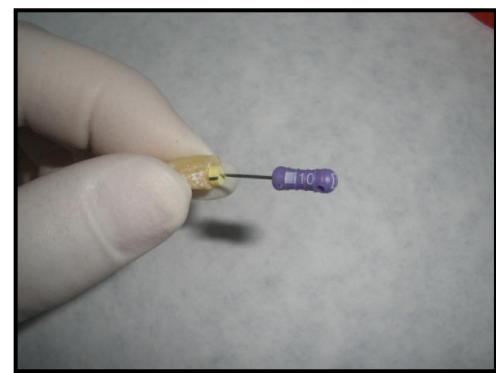


Fig. 3-2. Corte de la corona dentaria

Fig. 3-3. Permeabilidad del conducto radicular con lima K, nº 10.

Antes de la utilización de los sistemas automatizados se realizó una instrumentación manual de los conductos radiculares de forma circunferencial con limas K, desde una lima 15 hasta una lima 25 y a longitud de trabajo. Tras cada cambio de lima, la irrigación se llevó a cabo con 1 ml de agua destilada con jeringa de 5 ml y aguja de irrigación con salida lateral (figura 3-4). Tras el desbridamiento, los conductos radiculares se irrigaron con ácido etilendiamino-tetraacélico (EDTA) al 17% durante 1 minuto, seguido de una solución de hipoclorito de sodio al 1% y por último, con agua destilada estéril¹⁵². A continuación, los ápices de los dientes se sellaron con cianoacrilato¹⁵³ y se fabricaron moldes de silicona individualizados¹⁵⁴ de cada diente, para facilitar la manipulación durante la instrumentación rotatoria.

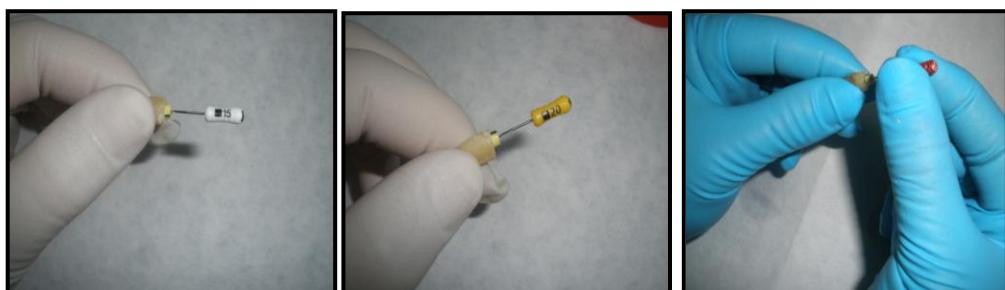


Fig.3-4. Instrumentación manual, limas K nº 15-25

¹⁵² Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO. Effectiveness of three instrumentation systems to remove Enterococcus faecalis from root canals. Int Endod J. 2012;45:435-8.

¹⁵³ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. J Endod. 2010;36:1238-40.

¹⁵⁴ 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;33:48-51.

Cada uno de los especímenes radiculares se introdujo en un Eppendorf, que contenía 1,5 ml de caldo infusión de cerebro-corazón (BHI) y se esterilizaron, al igual que los moldes de silicona, en autoclave a 121°C a 1 atmósfera de presión durante 30 minutos (figura 3-5).



Fig. 3-5. Especímenes introducidos en Eppendorf con BHI y los moldes individualizados de silicona.

3.2.3. Inoculación con Enteroccocus faecalis

La bacteria utilizada fue *E. faecalis* CECT 795 de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Burjasot, Valencia), cuyo nombre y número de identificación internacional es ATCC 29212. A partir de un cultivo de 24 horas se preparó un inóculo de la bacteria en BHI. Los Eppendorf que contenían los especímenes estériles se inocularon con 100 µl del inóculo usando una pipeta calibrada y puntas de pipeta estériles. Posteriormente, se procedió a la incubación en una estufa a 37°C durante 4 semanas, añadiéndose caldo BHI fresco cada siete días¹⁵⁵. Tras el período de

¹⁵⁵ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on Enteroccus faecalis-infected root canals. J Endod. 2011;37(8):1121-3.

incubación, los especímenes se retiraron de los Eppendorf y cada diente se introdujo en el molde personalizado, que previamente había sido identificado.

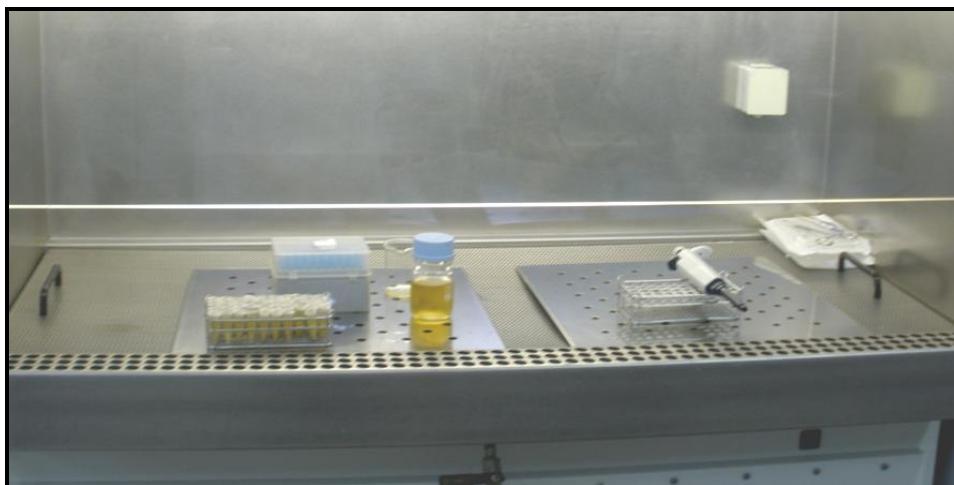


Fig. 3-6. Campana de flujo laminar donde se llevó a cabo todo el procedimiento

A continuación, se procedió a la primera toma de muestra del conducto radicular. Para ello, se introdujo una lima K-15 a 1 mm de la longitud de trabajo y se realizaron movimientos circunferenciales durante 10 segundos, tras lo cual se dispensaron 10 μl de BHI en el interior del conducto. A continuación se introdujeron, secuencialmente, tres puntas de papel estériles del nº 20, manteniendo cada una 10 segundos en el interior del conducto. Las puntas se transfirieron a un Eppendorf que contenía 500 μl de caldo BHI. Se procedió a su agitación en un vórtex durante 30 segundos y seguidamente se realizaron 5 diluciones seriadas, 10^{-1} a 10^{-5} , en placas de microtiter. Para ello, se transfirieron 20 μl de la suspensión del Eppendorf a 180 μl de solución salina y sucesivamente hasta obtener la quinta dilución. Posteriormente, de la suspensión del vórtex y de cada dilución se

sembraron 10 µl en placas de Petri con ágar BHI. Tras su incubación a 37º C, durante 48 h, se procedió al recuento de las unidades formadoras de colonias (UFCs), expresándose los resultados en ml.

Todo el proceso de manipulación se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar y en máximas condiciones de esterilidad para minimizar una posible contaminación.

3.2.4. Preparación del conducto

Los especímenes se dividieron en tres grupos de estudio (n=24) de acuerdo con el sistema de instrumentación utilizado; a su vez cada grupo se subdividió, en función de la solución irrigadora utilizada, de forma que a cada grupo se le asignaron de forma aleatoria 12 especímenes (tabla 3-2)

Tabla 3-2. Grupos de estudio

GRUPOS	SISTEMA DE INSTRUMENTACIÓN	SOLUCIÓN IRRIGADORA
Mtwo (n= 24)	limas Mtwo (n= 12) limas Mtwo (n= 12)	Agua destilada estéril Hipoclorito de sodio al 5,25%
Twisted Files (n= 24)	limas Twisted Files (n= 12) limas Twisted Files (n= 12)	Agua destilada estéril Hipoclorito de sodio al 5,25%
WaveOne (n= 24)	limas WaveOne (n= 12) limas WaveOne (n= 12)	Agua destilada estéril Hipoclorito de sodio al 5,25%

La preparación con los sistemas de instrumentación de los conductos radiculares se llevó a cabo con limas Mtwo 25/.06, 30/.05, 35/.04, 40/.04, a longitud de trabajo; limas Twisted Files 25/.06, 30/.06, 35/.05, 40/.04. y WaveOne 40/.08, usado ambos con técnica corono-apical. Cada juego de limas se descartó tras ser utilizado en cuatro especímenes. Entre cada uso la limas se limpiaron y se introdujeron en un esterilizador de bolas durante 10 segundos.

El volumen total de irrigación se estandarizó en 18 ml en todos los especímenes. Tras cada cambio de lima, se introdujeron 2 ml de agua destilada o 2 ml de hipoclorito sódico al 5,25%, dependiendo del grupo a tratar y se llevó a cabo con una aguja con salida lateral; y el enjuague final se llevó a cabo utilizando 10 ml de la solución irrigadora en cada grupo. En todos los casos, después de cada irrigación la aguja se esterilizó en un esterilizador de bolas. Cuatro raíces no fueron instrumentadas sirviendo como control de esterilidad.

Tras la instrumentación rotatoria se realizó la segunda recogida de muestra, que se llevó a cabo con dos metodologías diferentes, con el objetivo de compararlas. La primera de ellas, se realizó siguiendo la metodología descrita anteriormente para obtener la muestra inicial. Seguidamente, se tomó una segunda muestra, a longitud de trabajo, con limas Hedström de calibre 40, instrumentando el conducto circunferencialmente durante 30 segundos. La metodología utilizada en el procesamiento y la

exposición de los resultados fue la misma que la realizada con las puntas de papel.

3.2.5 Recrecimiento de *E. faecalis*

En todos los especímenes irrigados con NaOCl no se pudo aislar ninguna bacteria después de la instrumentación. Todas las raíces de este grupo se sometieron a un nuevo procedimiento para determinar si aún quedaban bacterias en el interior de la dentina y el tiempo en que se podía evidenciar el recrecimiento, en caso de que las hubiera.

La metodología usada fue la siguiente: en los especímenes se introdujo diariamente una punta de papel estéril del nº 20 que se impregnó con 15 µl de medio BHI, incubándose a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, se introdujo la punta de papel en 1cc de caldo BHI y se incubó a 37°C durante 24 horas. Este procedimiento se realizó durante 60 días.

La turbidez en el caldo BHI se consideró como crecimiento positivo¹⁵⁶, procediéndose a sembrar una muestra en placas de ágar sangre para comprobar que era *E. faecalis* y no había existido contaminación de otra bacteria. A partir de este momento se desechó el espécimen.

¹⁵⁶ Ferrer-Luque CM, Conde-Ortiz A, Arias-Moliz MT, Valderrama MJ, Baca P. Residual activity of chelating agents and their combinations with cetyltrimidide on root canals infected with Enterococcus faecalis. J Endod. 2012;38:826-8.

3.2.6 Análisis estadístico

Los recuentos bacterianos obtenidos antes y justo después de la instrumentación se transformaron para su análisis en logaritmo decimal. Para determinar la eficacia de los tres sistemas de instrumentación y de las dos soluciones irrigadoras frente *E. faecalis*, se utilizaron los resultados obtenidos antes y después de la instrumentación (toma de muestra con puntas de papel) y se expresaron como porcentaje de reducción. Se calculó en cada grupo mediante la siguiente fórmula:

$$[1 - (\text{CFUs pre-instrumentation} / \text{CFUs post-instrumentation})] \times 100.$$

Para cada solución irrigadora se comparó, dos a dos, el porcentaje de reducción de los tres sistemas de instrumentación utilizando el test *t* de Student, sometiendo previamente los datos a la transformación normalizadora de Anscombe.

Para evaluar el crecimiento se determinaron los especímenes que no habían mostrado crecimiento a los 5, 15, 30 y 60 días. La comparación entre grupos para cada momento se realizó mediante el test de comparación de proporciones binomiales.

El comportamiento de los grupos NaOCl, teniendo en cuenta todo el periodo de seguimiento, se evaluó usando el análisis no paramétrico de supervivencia de Kaplan Meier. Se considera que un especimen sobrevive cuando no se evidencia crecimiento de *E. faecalis* en un tiempo dado. Las diferencias de supervivencia entre los grupos fueron analizadas utilizando el test del logaritmo de los rangos.

TESIS DOCTORAL

Para comparar los dos métodos de toma de muestra, puntas de papel *versus* limas Hedström, con los resultados expresados en unidades logarítmicas, se utilizó el test *t* de Student para muestras apareadas, previa aplicación del test de Kolmogorov-Smirnov para contrastar la normalidad de las variables. La comparación del porcentaje de reducción de los tres sistemas de instrumentación se llevó a cabo utilizando el test *t* de Student, sometiendo previamente los datos a la transformación normalizadora de Anscombe.

El nivel de significación fue $\alpha=0,05$. Todo el análisis estadístico se realizó con el programa SPSS, versión 20.0.

RESULTADOS

4.1 Resultados a corto plazo

La disminución de la carga bacteriana, expresada como porcentaje de reducción, obtenida con los sistemas de instrumentación Mtwo, Twisted Files y WaveOne y utilizando como solución irrigadora agua destilada, se muestra en la Tabla 4-1.

En los 3 grupos se aisló *E. faecalis*. Los porcentajes de reducción oscilaron entre 95,91% con el sistema Mtwo y 98,27% con el sistema WaveOne. La comparación entre grupos muestra que no hay diferencias significativas entre ellos.

Tabla 4-1. Recuentos de *Enterococcus faecalis* antes y después de la instrumentación usando como solución irrigadora **agua destilada**. Porcentaje de reducción: comparación entre grupos (n= 12/grupo). Media ± de.

GRUPO	Antes $\log_{10}(\text{UFCs} + 1)/\text{ml}$	Después $\log_{10}(\text{UFCs} + 1)/\text{ml}$	Porcentaje de reducción*
Mtwo	6,33 ± 0,33	4,68 ± 0,51	95,91 ± 3,80
TF	6,22 ± 0,38	4,52 ± 0,42	96,19 ± 4,77
WaveOne	6,90 ± 0,21	4,82 ± 0,65	98,27 ± 2,50

*Comparación con el test t de Student sometiendo a los datos previamente a la transformación de Anscombe. Valor de p: Mtwo versus Twisted File: p=0,787; Mtwo versus WaveOne: p=0,064; Twisted File versus WaveOne: p=0,133.

En los tres grupos irrigados con NaOCl, el porcentaje de reducción justo después de la instrumentación fue del 100% (Tabla 4-2)

Tabla 4-2. Recuentos de *Enterococcus faecalis* antes y después de la instrumentación usando como solución irrigadora NaOCl al 5,25%. Porcentaje de reducción. (n= 12/grupo). Media ± de.

GRUPO	Antes \log_{10} (UFCs + 1)/ml	Después \log_{10} (UFCs + 1)/ml	Porcentaje de reducción
Mtwo	6,24 ± 0,76	0	100
TF	6,10 ± 0,95	0	100
WaveOne	6,69 ± 0,40	0	100

4.2 Recrecimiento a largo plazo en grupos NaOCl

Sólo en los grupos NaOCl, fue posible evaluar el recrecimiento bacteriano en el tiempo. La Tabla 4-3 muestra los especímenes sin recrecimiento de *E. faecalis* después de 60 días de evaluación. El grupo Mtwo, mostró mayor número de muestras sin recrecimiento con diferencias significativas respecto a los otros dos en 30 y 60 días (tabla 4-4).

RESULTADOS

Tabla 4-3. Especímenes sin recrecimiento de *Enterococcus faecalis* después de diferentes periodos de tiempo en los grupos irrigados con NaOCl al 5,25% (muestra inicial n=12).

	Tiempo evaluado (días)*							
	5		15		30		60	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Mtwo	12	100	12	100	12	100	10	83,3
TF	9	72,2	8	66,8	7	58,3	5	41,6
WaveOne	8	66,8	6	50	4	33,3	4	33,3

*El recrecimiento fue evaluado diariamente.

Tabla 4-4. Comparación entre grupos del porcentaje de muestras sin recrecimiento de *Enterococcus faecalis* en diferentes períodos de tiempo en los grupos irrigados con NaOCl al 5,25%. Valor de *p**

	Tiempo evaluado (días)*			
	5	15	30	60
Mtwo versus TF	0,217	0,093	0,037	0,049
Mtwo versus WaveOne	0,093	0,0137	0,001	0,036
TF versus WaveOne	0,999	0,447	0,413	0,700

* Comparación entre grupos realizada mediante el test de comparación de proporciones binomiales.

El número de especímenes con crecimiento de *E. faecalis* y la mediana del día en que se evidenció recrecimiento bacteriano en los grupos irrigados con NaOCl se recoge en la Tabla 4-5. Los resultados del análisis de supervivencia de Kaplan Meier se muestran en la Figura 1. Comparaciones dos a dos determinadas

con el test del logaritmo de los rangos muestran una supervivencia mayor del grupo Mtwo con diferencias significativas respecto a los otros grupos.

Tabla 4-5. Recrecimiento de *Enterococcus faecalis* en los grupos irrigados con NaOCl al 5,25%. Número de muestras crecidas en 60 días (n=12/grupo).

	Número de muestras crecidas	Mínimo	Máximo	Mediana
Mtwo ^a	2	39	>60	>60
Twisted File ^b	7	2	>60	45
WaveOne ^b	8	1	>60	11

Comparación con el test del logaritmo de los rangos. La misma letra en superíndice muestra que no hay diferencias significativas entre grupos. Valor de p : Mtwo versus Twisted File: $p=0,029$; Mtwo versus WaveOne: $p=0,005$; Twisted File versus WaveOne: $p=0,530$.

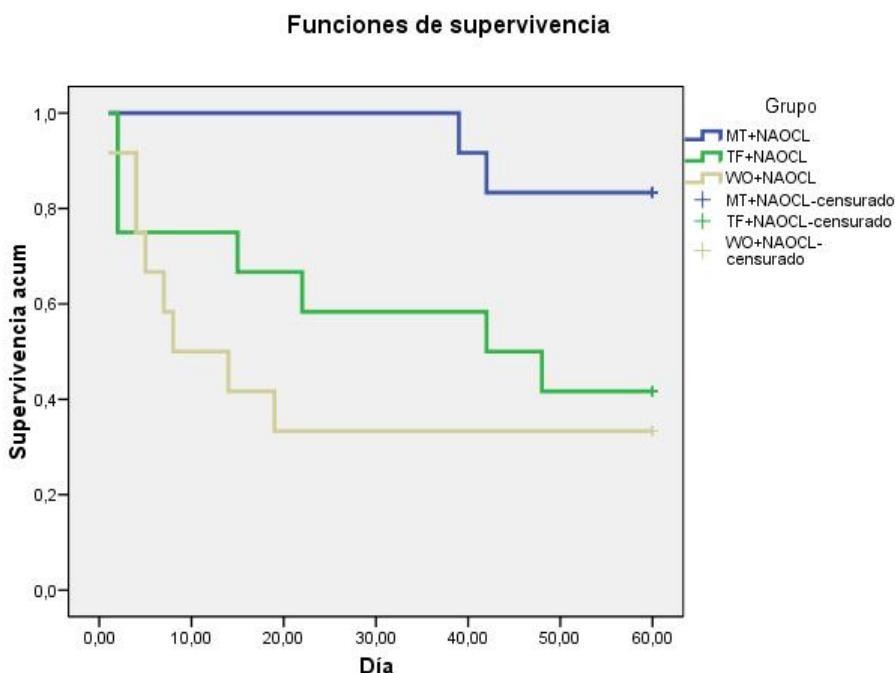


Figura 4-1. Supervivencia de Kaplan-Meier a 60 días. Probabilidad de no recrecimiento en grupos irrigados con NaOCl al 5,25%.

4.3 Comparación de dos métodos para la toma de muestra

En la Tabla 4-6, se muestran y se comparan los recuentos de *E. faecalis*, expresados como logaritmo en base 10 de UFC+1/ml, tras la instrumentación, usando como solución irrigadora agua destilada y utilizando 2 metodologías de toma de muestra. Los resultados muestran que no hay diferencias significativas entre ambas metodologías.

En la tabla 7 se exponen los porcentajes de reducción obtenidos con los dos métodos y en la tabla 8 las comparaciones entre grupos para cada metodología. No se encuentran diferencias significativas entre grupos para ninguna de ellas.

Tabla 4-6. Recuentos de *Enterococcus faecalis* tomados después de la instrumentación en grupos **agua destilada**. Comparación entre 2 métodos de toma de muestra. Media ± ds.

	Puntas de papel	Limas Hedström	Comparación*
	$\log_{10}(\text{UFCs} + 1)/\text{ml}$	$\log_{10}(\text{UFCs} + 1)/\text{ml}$	Valor de <i>p</i>
Mtwo	4,69 ± 0,52	4,58 ± 0,51	0,590
Twisted Files	4,52 ± 0,42	4,24 ± 0,44	0,165
WavOne	4,82 ± 0,65	4,42 ± 0,86	0,064

*Comparación mediante el test t de Student para muestras apareadas.

Tabla 4-7. Porcentaje de reducción de *Enterococcus faecalis* con 2 métodos de toma de muestra después de la instrumentación en grupos **agua destilada**. Media ± ds.

GRUPO	Puntas de papel	Limas Hedström
Mtwo	95,91 ± 3,80	93.33 ± 16.11
Twisted Files	96,19 ± 4,77	96.16 ± 6.4
WaveOne	98,27 ± 2,5	99.05 ± 1.13

Tabla 4-8. Comparación del porcentaje de reducción de *Enterococcus faecalis* con 2 métodos de toma de muestra después de la instrumentación en grupos irrigados con **agua destilada**. Valor de *p*.

COMPARACIÓN entre GRUPOS*

GRUPOS	Puntas de papel	limas Hedström
Mtwo vs. TF	0.787	0.589
Mtwo vs. WO	0.065	0.113
TF vs. WO	0.135	0.126

*Comparación con el test t de student sometiendo a los datos previamente a la transformación de Anscombe.



DISCUSIÓN

Uno de los objetivos más importantes de la preparación de conductos radiculares es la eliminación del tejido pulpar vital o necrótico y del barrillo dentinario¹⁵⁷. Además, conseguir la eliminación de los microorganismos en conductos radiculares infectados y la prevención de la reinfección es fundamental para obtener el éxito en el tratamiento endodóntico.

5.1. Validez interna del estudio

En el presente estudio, se ha seguido una metodología dirigida a la estandarización de los protocolos utilizados. Para ello, se seleccionaron premolares uniradiculares que fueron radiografiados^{158,159,160} para confirmar la presencia de un solo conducto. La corona dentaria se cortó, a nivel de la unión amelocementaria, para tener mejor acceso a la cámara pulpar^{161,162,163} y se igualó la longitud radicular de todos los dientes para evitar

¹⁵⁷ European Society of Endodontontology. Consensus report of the European Society of Endodontontology on quality guidelines for endodontic treatment. Int Endod J. 1994;27:115-24.

¹⁵⁸ 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;33:48-51.

¹⁵⁹ Bürklein S, Tsotsis P, Schäfer E. Incidence of dentinal defects after root canal preparation: reciprocating versus rotary instrumentation. J Endod. 2013;39(4):501-4.

¹⁶⁰ Bürklein S, Hinschitz K, Dammaschke T, Schäfer E. Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth: Reciproc and WaveOne versus Mtwo and ProTaper. Int Endod J. 2012;45(5):449-61.

¹⁶¹ Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in Enterococcus faecalis colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:105-10.

¹⁶² Uroz-Torres D, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Effectiveness of a manual glide path on the preparation of curved root canals by using Mtwo rotary instruments. J Endod. 2009;35:699-702.

¹⁶³ Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, Malagnino VA. SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. Int Endod J. 2004;37:832-839.

posibles sesgos. Los especímenes se instrumentaron previamente con limas manuales K desde un calibre 15 hasta 25, con el fin de facilitar la penetración bacteriana en los túbulos dentinarios, así como para estandarizar la instrumentación posterior de los conductos radiculares.

Se seleccionó *E. faecalis* por ser una bacteria frecuentemente aislada en infecciones endodónticas persistentes y por ser muy resistente a los protocolos del tratamiento endodóntico^{164,165,166}. Además, se optó por la cepa 795 (ATCC 29212) de *E. faecalis*, por ser de referencia y la más utilizada en los trabajos publicados. La bacteria penetra en el interior de los túbulos dentinarios, como consecuencia de la atracción del microorganismo por el colágeno, y puede sobrevivir en el sistema de conductos radiculares, de 4 semanas hasta 12 meses, incluso en los conductos obturados^{167,168,169,170}.

Los conductos radiculares inoculados con *E. faecalis* se incubaron en una estufa durante 4 semanas a 37°C. Este periodo de tiempo

¹⁶⁴ Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Recovery of Enterococcus faecalis after single or multiple visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. Int Endod J. 2005;38:697-704.

¹⁶⁵ Sakamoto M, Siqueira JF Jr, Rôcas IN, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. Oral Microbiol Immunol. 2007;22:19-23.

¹⁶⁶ Siqueira JF Jr., Rôcas IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: part 1-current molecular technologies for microbiological diagnosis. J Endod. 2005;31:411-423.

¹⁶⁷ Chivatxanukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2008;41:873-882.

¹⁶⁸ Love RM. *Enterococcus faecalis*: a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001;34:399-405.

¹⁶⁹ Sedgley CM, Lennan SL. Appelde OK Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. Int Endod J. 2005;38:735-742.

¹⁷⁰ Siqueira JF Jr. and Rôcas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. J Endod. 2008;34:1291-1301.

fue establecido en base a los resultados de Johal y cols.¹⁷¹, Nakamura y cols.¹⁷², Paranjpe y cols.¹⁷³ y Siqueira y cols.¹⁷⁴ que demostraron que un mayor tiempo de incubación hará más difícil la eliminación de las bacterias del conducto radicular infectado, acercándose más a la realidad clínica. En otros trabajos^{175,176} solo se incubaron durante 72 horas a 37°C.

Al igual que en otros estudios^{177,178,179,180,181}, en el presente trabajo se ha realizado el recuento de bacterias antes y después de la

¹⁷¹ 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;33:48-51.

¹⁷² Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. *Int Endod J*. 2013;46(3):217-24.

¹⁷³ Paranjpe A, de Gregorio C, Gonzalez AM, Gomez A, Silva Herzog D, Piña AA, Cohenca N. Efficacy of the self-adjusting file system on cleaning and shaping oval canals: a microbiological and microscopic evaluation. *J Endod*. 2012;38(2):226-31.

¹⁷⁴ Siqueira JF Jr, Alves FR, Versiani MA, Rôças IN, Almeida BM, Neves MA, Sousa-Neto MD. Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc, and twisted file systems. *J Endod*. 2013;39(8):1044-50.

¹⁷⁵ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod*. 2010;36:1238-40.

¹⁷⁶ Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in Enterococcus faecalis colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;109:105-10.

¹⁷⁷ Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Enterococcus faecalis within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J*. 2006; 39(1):10-7.

¹⁷⁸ Rôças IN, Lima KC, Siqueira JF Jr. Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation--a clinical study. *Int Endod J*. 2013;46(7):681-7.

¹⁷⁹ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *J Endod*. 2010;36:1238-40.

¹⁸⁰ Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO. Effectiveness of three instrumentation systems to remove Enterococcus faecalis from root canals. *Int Endod J*. 2012;45:435-8.

TESIS DOCTORAL

instrumentación. Ello permite obtener el porcentaje de reducción bacteriana tras la preparación en cada uno de los especímenes. En otros estudios^{182,183,184,185}, se inoculó una cantidad concreta de *E. faecalis* y no se hicieron recuentos previos.

En tres grupos de estudio de este trabajo, al igual que Singla y cols.¹⁸⁶, Machado y cols.¹⁸⁷ y Matos Neto y cols.¹⁸⁸, se utilizó agua destilada estéril como solución irrigadora, puesto que no tiene efecto antibacteriano sobre *E. faecalis*; así la eliminación de las bacterias podría atribuirse a la acción mecánica de los instrumentos.

Para eliminar el barrillo dentinario y los detritus inorgánicos del interior de los conductos radiculares se recomienda el uso

¹⁸¹ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46(3):217-24.

¹⁸² Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in Enterococcus faecalis colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:105-10.

¹⁸³ 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;33:48-51.

¹⁸⁴ Gorduysus M, Nagas E, Torun OY, Gorduysus O. A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of Enterococcus faecalis from the root canal. Aust Endod J. 2011;37:128-33

¹⁸⁵ Dagna A, Arciola CR, Visai L, Selan L, Colombo M, Bianchi S, Poggio C. Antibacterial efficacy of conventional and single-use Ni-Ti endodontic instruments: an in vitro microbiological evaluation. Int J Artif Organs. 2012;35(10):826-31.

¹⁸⁶ Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in Enterococcus faecalis colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:105-10.

¹⁸⁷ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. J Endod. 2010;36:1238-40.

¹⁸⁸ Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO. Effectiveness of three instrumentation systems to remove Enterococcus faecalis from root canals. Int Endod J. 2012;45:435-8.

combinado de soluciones irrigadoras con acción quelante junto con otras de acción antimicrobiana^{189,190,191}.

En este trabajo, sólo se usó NaOCl^{192,193} a una concentración del 5,25% en los otros tres grupos de estudio restantes. Por una parte se considera el antimicrobiano más efectivo y por otra para evitar los efectos de su interacción con otras soluciones irrigadoras.

Dado que los microorganismos que quedan en el interior de los túbulos dentinarios penetran a gran profundidad y pueden recrecer, reinfectando nuevamente el conducto radicular principal, en el presente estudio, la segunda toma de muestra tras la preparación del conducto fue doble. Primero mediante puntas de papel absorbente, seguido de una muestra de tejido dentinario utilizando limas Hedström. La toma de muestra con puntas de papel podría presentar algunas limitaciones¹⁹⁴, pues sólo son capaces de detectar bacterias presentes en el conducto principal y con un acceso limitado a las zonas donde el conducto es irregular.

¹⁸⁹ West JD, Roane JB, Goerig AC. Cleaning and shaping the root canal system. In: Cohen S, Burns RC, eds. Pathways of the Pulps, 6th edn. St. Louis, MO, USA: Mosby.1994;179-218.

¹⁹⁰ Hulsmann M, Rummelin C, Schafers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. J of Endod.1997;23:301-6.

¹⁹¹ Gambarini G. Shaping and cleaning the root canal system: a scanning electron microscopic evaluation of a new instrumentationand irrigationtechnique. J Endod. 1999;25:800-3.

¹⁹² Spångberg L, Engstrom B, Langeland K. Biological effects of dental materials. Part 3. Toxicity and antimicrobial effects on endodontic antiseptics in vitro. Oral Surg. 1973;36:856-71.

¹⁹³ Türkün M, Cengiz T. The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness. Inter Endod J. 1997;30:335-42.

¹⁹⁴ Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Rôcas IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. J Endod. 2010;36:1860-5.

TESIS DOCTORAL

Para solucionar este problema se procedió al limado circunferencial, previo a la toma de muestra, utilizando una lima K 15. Además, se llevó a cabo una toma de muestra adicional con limas Hedström cuya acción de limado circunferencial en la totalidad del conducto, podría suponer una toma de muestra más efectiva. La comparación de la eficacia de ambos métodos fue, de hecho, uno de los objetivos de este trabajo y sus resultados se discuten a continuación.

En el presente estudio, sólo se realizó la toma doble (puntas de papel y limas Hedström) en las muestras que se recogieron después de la instrumentación, tanto en los grupos de agua destilada como NaOCl. Sin embargo, la comparación entre métodos sólo fue posible hacerla en los grupos agua destilada, en donde hubo crecimiento bacteriano a corto plazo. Los resultados muestran que no hubo diferencias significativas entre ambos métodos de toma de muestra, con ninguno de los sistemas de instrumentación. Las limas Hedström no han supuesto una toma de muestra más efectiva.

Han sido varios los trabajos que han evaluado distintas formas de toma de muestra y los resultados, aunque no siempre¹⁹⁵, sí que muestran una consistencia con los de este estudio en el sentido de no diferencias entre métodos^{196,197,198,199}. Hay que tener en cuenta

¹⁹⁵ Paranjpe A, de Gregorio C, Gonzalez AM, Gomez A, Silva Herzog D, Piña AA, Cohenca N. Efficacy of the self-adjusting file system on cleaning and shaping oval canals: a microbiological and microscopic evaluation. J Endod. 2012;38(2):226-31.

¹⁹⁶ Dalton CB, Ørstavik D, Phillips C. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. J Endod. 1998;24:763-767.

¹⁹⁷ Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Viana ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in

que pequeñas modificaciones en el método pueden dar lugar a diferentes resultados. Por ejemplo, el uso previo y activo de una lima antes de hacer la toma con puntas de papel, podría remover dentina infectada y aumentar los recuentos. De hecho, es posible que la diferencia en este estudio entre los dos métodos utilizados se deba a que, antes de introducir la punta de papel, se limó circunferencialmente el conducto con una lima K15.

5.2. Eficacia a corto plazo de los sistemas de instrumentación mecánica en la desinfección de conductos radiculares

Uno de los principales objetivos para que la endodoncia sea un éxito es tratar de eliminar o minimizar los microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares, para así evitar una posible recidiva. El presente estudio comparó la eficacia en la desinfección de conductos radiculares instrumentados con los sistemas Mtwo, Twisted File y WaveOne con diferentes características. Además, estos sistemas utilizan técnicas de instrumentación diferentes, mientras que con Mtwo todos los instrumentos trabajan a longitud de trabajo, con Twisted Files y WaveOne la técnica de instrumentación es corono-apical.

reducing Enterococcus faecalis within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10-7

¹⁹⁸ Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Rôças IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. J Endod. 2010;36(11):1860-5.

¹⁹⁹ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46(3):217-24.

Teniendo en cuenta los resultados de este estudio, podemos afirmar que la preparación de conductos radiculares con instrumentos rotatorios, utilizando como solución irrigadora agua destilada (sin actividad antimicrobiana), consigue *perse* una reducción importante del número de bacterias. Los porcentajes de reducción obtenidos por Mtwo, TF y WaveOne fueron del 95,91, 96,19 y 98,27% respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos, lo que demostraría, además, que la eficacia es independiente del sistema de instrumentación utilizado. Sin embargo, ninguno de los especímenes irrigados con agua destilada se encontró libre de bacterias, lo que reafirma la necesidad de usar agentes desinfectantes en la preparación de conductos radiculares²⁰⁰.

Los resultados de estudios previos han mostrado que si bien la eficacia de reducción es elevada, los porcentajes de reducción no suelen alcanzar el 90%, aunque globalmente se podría considerar (salvo excepciones), que no hay diferencias entre técnicas de instrumentación. Machado y cols.²⁰¹, utilizando una metodología muy similar excepto en el tiempo de incubación de la bacteria (72 horas), demostraron una reducción significativa de *E. faecalis* del 81,94% y 84,29% con los sistemas rotatorios ProTaper (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suiza) y Mtwo, respectivamente. Más

²⁰⁰ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. J Endod. 2010;36:1238-40.

²⁰¹ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. J Endod. 2010;36:1238-40.

recientemente,²⁰² este mismo equipo de investigación, comparó 4 técnicas de instrumentación con 5 sistemas: WaveOne, Reciproc (VDW GmbH, Munich, Germany), ProTaper, Mtwo e instrumentación manual, usando también como irrigante agua destilada. Se obtuvo un porcentaje de reducción de 91,4%, 91,8%, 88%, 94,5% y 88,5% respectivamente, sin encontrar diferencias significativas entre los grupos. Igualmente, Singla y cols.²⁰³ observaron que el número de UFCs se redujo por igual con limas manuales y dos sistemas rotatorios Profile® y ProTaper®, sin diferencias significativas entre ellos. Matos Neto y cols.²⁰⁴ evaluaron el porcentaje de reducción de *E. faecalis* con el sistema rotatorio ProTaper®, la técnica manual ProTaper y con limas manuales K-files siendo del 75,61%, 83,44% y 92,48%, respectivamente, no habiendo diferencias significativas entre ellos.

Otros estudios han utilizado solución salina en lugar de agua destilada. Aunque no es el mismo irrigante, es una solución sin actividad antimicrobiana, de forma que la discusión de sus resultados podría ser útil. Gorduysus y cols.²⁰⁵ compararon la

²⁰² Machado ME, Nabeshima CK, Leonardo MF, Reis FA, Britto ML, Cai S. Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. Int Endod J. 2013;46(11):1083-7.

²⁰³ Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in Enterococcus faecalis colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:105-10.

²⁰⁴ Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO. Effectiveness of three instrumentation systems to remove *Enterococcus faecalis* from root canals. Int Endod J. 2012;45:435-8.

²⁰⁵ Gorduysus M, Nagas E, Torun OY, Gorduysus O. A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal. Aust Endod J. 2011;37:128-33

eficacia de reducción de *E. faecalis* con tres sistemas rotatorios ProTaper, K3 (Sybron Endo; Orange, CA, USA), HeroShaper (Micro-Mega; Besançon, Francia) y limas manuales. Al realizar la comparación con los sistemas usados, se obtuvieron diferencias significativas, siendo el sistema ProTaper el más eficaz.

En la segunda parte del diseño experimental, el objetivo era determinar el efecto añadido de utilizar NaOCl como solución irrigadora con los tres sistemas de instrumentación. La concentración fue del 5,25% que es la recomendada en conductos necróticos infectados. Si bien al 2,5% puede erradicar biopelículas de *E. faecalis* de 24 horas en unidades volumétricas de dentina²⁰⁶, una mayor concentración suele ser necesaria cuando se tratan raíces y no muestras de dentina.

Los resultados obtenidos justo después de la instrumentación fueron excepcionales, ya que no fue posible aislar ninguna bacteria en ninguno de los sistemas ensayado. Esta erradicación o porcentaje de reducción del 100% a corto plazo podría deberse al efecto sumatorio instrumentación-NaOCl y, precisamente, a la alta concentración utilizada del 5,25%. De hecho, los estudios que incluyeron grupos de estudio con esta alta concentración obtienen siempre erradicación^{207,208}. Concentraciones inferiores consiguen

²⁰⁶ 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.

²⁰⁷ Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10-7

²⁰⁸ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46(3):217-24.

buenos resultados, pero no 100% de reducción. Al igual que se observó utilizando como solución irrigadora agua destilada, el comportamiento entre sistemas de instrumentación en cuanto a reducción bacteriana es similar cuando se incorpora una solución con acción antimicrobiana.

Dalton y cols.²⁰⁹ evaluaron la eliminación de bacterias usando como irrigante NaOCl al 1% y comparando dos grupos de estudio, un grupo con limas manuales K (Dentsply, Caulk; Dentsply International, Inc., Milford, DE) y otro grupo con limas del sistema rotatorio Profile (.04 Tapers Series 29; Tulsa Dental Products, Tulsa OK), encontrando una importante y significativa reducción de bacterias, pero sin diferencia significativa entre las técnicas usadas. Siqueira y cols.²¹⁰ compararon diferentes técnicas manuales y rotatorias, utilizando como solución antimicrobiana NaOCl al 2,5%. Si bien tampoco alcanzaron erradicación, consiguieron importantes reducciones de *E. faecalis* sin diferencias entre las técnicas. Igualmente, Berber y cols.²¹¹ combinaron diferentes técnicas, manuales y rotatorias, y solución salina estéril e NaOCl a concentraciones desde 0,5% a 5,25%. No hubo diferencias significativas entre los grupos de estudio, aunque la eficacia fue concentración-dependiente.

²⁰⁹ Dalton CB, Ørstavik D, Phillips C. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. J Endod. 1998;24:763-767.

²¹⁰ Siqueira JF Jr, Rôças IN, Santos SR, Lima KC, Magalhães FA, de Uzedo M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. J Endod. 2002;28(3):181-4.

²¹¹ Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10-7.

TESIS DOCTORAL

Chuste-Guillot y cols.²¹² evaluaron la eliminación de la bacteria *S. sanguis*, con los sistemas rotarios GT, Hero 642 (MicroMega, Besançon, Francia), ProFile y limas manuales utilizando como solución irrigadora NaOCl al 3,5%, siendo las limas manuales tan eficaces como los instrumentos rotatorios.

Siqueira y cols.²¹³, compararon 2 técnicas de instrumentación BioRaCe *versus* SAF usando NaOCl al 2,5%. Las técnicas fueron muy efectivas, SAF consiguió un porcentaje de reducción de *E. faecalis* del 100%, posiblemente debido al diseño de esta lima, aunque sin diferencias estadísticas significativas entre ellas.

En 2013, Nakamura y cols.²¹⁴ compararon el sistema rotatorio Protaper, instrumentando hasta una limas F5 y limas manuales K hasta calibre 50. Como soluciones irrigadoras emplearon solución salina, NaOCl al 1%, NaOCl al 1% combinado con ácido cítrico al 15% e NaOCl al 5,25%. Los resultados, en cuanto a eliminación de *E. faecalis* y *C. albicans* muestran que no hay diferencias entre los sistemas, pero sí entre las soluciones irrigadoras. El uso alternado de NaOCl al 1% con ácido cítrico al 1% y, sobre todo NaOCl al 5,25% que erradica, son superiores al uso único de NaOCl al 1%.

²¹² Chuste-Guillot MP, Badet C, Peli JF, Perez F. Effect of three nickel-titanium rotary file techniques on infected root dentin reduction. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102(2):254-8.

²¹³ Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Rôças IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. J Endod. 2010;36(11):1860-5.

²¹⁴ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46(3):217-24.

Basmaci y cols.²¹⁵ compararon 3 técnicas de instrumentación: SAF, Reciproc, ProTaper y 3 soluciones irrigadoras: PBS estéril, NaOCl 5% seguido de EDTA 15% y NaOCl 5% seguido de AM 7%, los resultados mostraron una importante reducción bacteriana, pero sin diferencia entre los grupos.

Siqueira y cols.²¹⁶ compararon 3 técnicas de instrumentación utilizando NaOCl al 2,5%: SAF, Reciproc y TF, siendo los porcentajes de reducción 99,8%, 99,6% y 99,8% respectivamente. La reducción de bacterias tras la instrumentación fue significativa, pero, siguiendo la tendencia, sin diferencias entre las 3 técnicas.

5.3. Eficacia a largo plazo de los sistemas de instrumentación mecánica irrigados con NaOCl al 5,25%. Recrecimiento bacteriano

Los resultados obtenidos a corto plazo en los grupos NaOCl en los que no se pudo aislar ninguna bacteria, indujo a realizar una evaluación (*a priori* no prevista) a largo plazo. Este objetivo, se sustenta en el hecho de que en el tratamiento endodóntico, no todas las bacterias son eliminadas tras la instrumentación químico-mecánica y pueden quedar microorganismos en los conductos accesorios, laterales, istmos y túbulos dentinarios. Además, la toma de muestra no es siempre exhaustiva y los microorganismos pueden llegar a colonizar la dentina en

²¹⁵ Basmaci F, Oztan MD, Kiyan M. Ex vivo evaluation of various instrumentation techniques and irrigants in reducing *E. faecalis* within root canals. Int Endod J. 2013;46(9):823-30.

²¹⁶ Siqueira JF Jr, Alves FR, Versiani MA, Rôças IN, Almeida BM, Neves MA, Sousa-Neto MD. Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc, and twisted file systems. J Endod. 2013;39(8):1044-50.

TESIS DOCTORAL

profundidad²¹⁷. Estas bacterias, con el tiempo, pueden iniciar un proceso de recrecimiento y reinfectar el conducto radicular principal y, como consecuencia, producir el fracaso del tratamiento endodóntico.

La evaluación del recrecimiento bacteriano no se llevó a cabo de forma cuantitativa, mediante de recuento de UFCs. La presencia de turbidez, y posterior confirmación de la presencia de *E. faecalis*, se considera como prueba positiva de recrecimiento²¹⁸.

Globalmente, es muy interesante destacar que la erradicación conseguida con NaOCl a corto plazo no se confirmó a largo plazo en todos los especímenes. Ello confirma que la bacteria está presente²¹⁹, bien de forma viable en la profundidad de la dentina o bien en forma latente, según la terminología anglosajona como *viable but nonculturable state (VBNC)*.

Un tiempo de seguimiento de 60 días es lo suficientemente amplio como para permitir el recrecimiento de estas bacterias teniendo en cuenta que la metodología incluye un aporte importante diario de nutrientes²²⁰. De hecho, en los últimos 10 días (desde el 50 al 60) no se positivizó ningún espécimen en ningún grupo de estudio.

²¹⁷ Chivatxanukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by Enterococcus faecalis. Int Endod J. 2008;41:873-882.

²¹⁸ Ferrer-Luque CM, Conde-Ortiz A, Arias-Moliz MT, Valderrama MJ, Baca P. Residual activity of chelating agents and their combinations with cetyltrimidé on root canals infected with Enterococcus faecalis. J Endod. 2012;38(6):826-8.

²¹⁹ Figgdr D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of Enterococcus faecalis in human serum. Oral Microbiol Immunol. 2003;18:234-9

²²⁰ Figgdr D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of Enterococcus faecalis in human serum. Oral Microbiol Immunol. 2003;18:234-9

DISCUSIÓN

Pocos estudios evalúan la capacidad antimicrobiana residual de soluciones irrigadoras en el conducto radicular. Un estudio²²¹ determinó la capacidad de inhibir la formación de biopelículas en cubitos de dentina durante 24 horas. Este periodo de tiempo tan corto solo permite valorar la adhesión entre las bacterias y el sustrato²²². Por otra parte, Ferrer-Luque y cols²²³, utilizando instrumentación rotatoria y una metodología muy similar a la del presente trabajo, realizaron un estudio para evaluar la actividad residual de agentes quelantes y su asociación con CTR a 60 días, aunque no evaluaron la acción de NaOCl como única solución irrigadora. La asociación de este surfactante (con acción antimicrobiana residual) con los agentes quelantes redujo significativa y considerablemente el número de especímenes con recrecimiento.

El hecho de que no haya erradicación total a largo plazo indica que las bacterias continúan en la profundidad de los túbulos dentinarios, lo que podría deberse a diferentes motivos. Por una parte, NaOCl no tiene ninguna acción antimicrobiana residual en la dentina^{224,225} y su alta tensión superficial²²⁶ hace más difícil que

²²¹ 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(3):363-6.

²²² Kishen A, Sum CP, Mathew S, et al. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. *J Endod*. 2008;34:850-4.

²²³ Ferrer-Luque CM, Conde-Ortiz A, Arias-Moliz MT, Valderrama MJ, Baca P. Residual activity of chelating agents and their combinations with cetyltrimidoxime on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2012;38(6):826-8.

²²⁴ Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, et al. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. *J Endod*. 2003;29:562-4.

penetre en el interior de los túbulos. Por otra parte, NaOCl puede ser inactivado por la capacidad tampón de la dentina²²⁷. Además, es posible que la irrigación final con 10 ml sea insuficiente. En éste sentido, es conocido que el uso de agentes quelantes es siempre necesario antes de una irrigación final con NaOCl^{228,229,230,231}.

En este estudio, el número de especímenes recrecidos fue significativamente menor con Mtwo (16,65%) comparado con Twisted File (58,33%) y WaveOne (66,66%), lo que puede ser atribuido a las diferentes técnicas de instrumentación. El sistema Mtwo realiza, desde la primera lima, una instrumentación a longitud de trabajo y como consecuencia, favorece que el irrigante contacte, y por lo tanto actúe desde el inicio de la instrumentación, en todo el conducto radicular. Por lo tanto, un contacto más prolongado del desinfectante con las paredes de la dentina facilita su penetración en los túbulos dentinarios. Además, el menor diámetro de estas limas probablemente

²²⁵ 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.

²²⁶ Taşman F, Cehreli ZC, Oğan C, Etikan I. Surface tension of root canal irrigants. J Endod. 2000;26(10):586-7.

²²⁷ Haapasalo M, Qian W, Portenier I, et al. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. J Endod. 2007;33:917-25.

²²⁸ Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part 3. J Endod. 1983;9:137-42.

²²⁹ Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J. 1985;18:35-40

²³⁰ Johal S, Baumgartner JC, Marshall JG. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% aOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. J Endod. 2007;33:48-51

²³¹ Ferrer-Luque CM, Conde-Ortiz A, Arias-Moliz MT, Valderrama MJ, Baca P. Residual activity of chelating agents and their combinations with cetyltrimidé on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2012;38(6):826-8.

también pueda contribuir a que haya un mayor volumen del irrigante en toda la longitud del conducto radicular durante la instrumentación. No obstante, serían necesarios más estudios para comprobar si un menor número de recrecimiento de *E. faecalis* con este sistema se debe a uno o varios de los supuestos mencionados anteriormente.



CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos y en función de los objetivos planteados, podemos concluir que:

1. Los sistemas rotatorios Mtwo, Twisted Files y WaveOne mostraron una eficacia similar en la desinfección inmediata de conductos radiculares infectados con *E. faecalis* cuando se usó como irrigante agua destilada. En ningún caso se alcanzó la erradicación bacteriana.
2. El uso de una solución de hipoclorito de sodio al 5,25%, con los sistemas rotatorios Mtwo, Twisted Files y WaveOne logró una desinfección inmediata del conducto radicular principal.
3. La evaluación a largo plazo de la desinfección en el interior de los túbulos dentinarios, determinada mediante el recrecimiento bacteriano, mostró que el sistema Mtwo fue el más eficaz.
4. Los resultados de la toma de muestras con limas Hedström tras las instrumentación rotatoria determinan que no hay diferencias significativas entre la recogida con puntas o con limas.



BIBLIOGRAFÍA

- ✓ Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medication. J Endod. 2005;31:30-6.
- ✓ Andrewes EW, Holder TJ. A study of the streptococci pathogenic for man. Lancet 1906;11:708-13,775-82.
- ✓ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35(5):711-4.
- ✓ 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 Enteroccus faecalis-infected root canals. J Endod. 2011;37(8):1121-3.
- ✓ Basmaci F, Oztan MD, Kiyan M. Ex vivo evaluation of various instrumentation techniques and irrigants in reducing E. faecalis within root canals. Int Endod J. 2013;46(9):823-30.
- ✓ Basrani B, Robinson C. Irrigación y aspiración. En Basrani E, Cañete M, Blank A, ed. Endodoncia Integrada. Colombia: Actualidades Médico Odontológicas. 1999;p:129-141.

- ✓ Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod.* 1992;18(12):605-12.
- ✓ Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J.* 2006;39(1):10-7.
- ✓ Berutti E, Chiandussi G, Paolino DS, Scotti N, Cantatore G, Castellucci A, Pasqualini D. Canal shaping with WaveOne Primary reciprocating files and ProTaper system: a comparative study. *J Endod.* 2012;38(4):505-9.
- ✓ Bonaccorso A, Cantatore G, Condorelli GG, Schäfer E, Tripi TR. Shaping ability of four nickel-titanium rotary instruments in simulated S-shaped canals. *J Endod.* 2009;35:883-6.
- ✓ Brau Aguadé E, Canalda Sahli C, Berástegui Jimeno E. Cutting efficiency of k-files manufactured with different metallic alloys. *Endod Dent Traumatol.* 1996;12:286-288.
- ✓ Bürklein S, Tsotsis P, Schäfer E. Incidence of dentinal defects after root canal preparation: reciprocating versus rotary instrumentation. *J Endod.* 2013;39(4):501-4.
- ✓ Bürklein S, Hinschitza K, Dammaschke T, Schäfer E. Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file

systems in severely curved root canals of extracted teeth: Reciproc and WaveOne versus Mtwo and ProTaper. Int Endod J. 2012;45(5):449-61.

- ✓ Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res. 1981;89:321-8.
- ✓ Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J. 1985;18:35-40.
- ✓ Canalda Sahli C, Brau Aguadé E. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. Masson 2006;Cap 15.p.159.
- ✓ Canalda Sahli C, Brau Aguadé E. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. 2^a ed. Barcelona: Masson. 2006;p.188.
- ✓ Carson KR, Goodell GG, McClanahan SB. Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. J Endod. 2005;31(6):471-3.
- ✓ Chávez de Paz LE, Bergenholz G, Svensäter G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. J Endod. 2010;36:70-7.
- ✓ Chivatxanukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2008;41:873-882.

TESIS DOCTORAL

- ✓ Chuste-Guillot MP, Badet C, Peli JF, Perez F. Effect of three nickel-titanium rotary file techniques on infected root dentin reduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(2):254-8.
- ✓ Colak M, Evcil S, Bayindir YZ, Yigit N. The effectiveness of three instrumentation techniques on the elimination of *Enterococcus faecalis* from a root canal: an in vitro study. *J Contemp Dent Pract.* 2005;6(1):94-106.
- ✓ Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999;284:1318-22.
- ✓ Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980;49(2):175-7.
- ✓ Dagna A, Arciola CR, Visai L, Selan L, Colombo M, Bianchi S, Poggio C. Antibacterial efficacy of conventional and single-use Ni-Ti endodontic instruments: an in vitro microbiological evaluation. *Int J Artif Organs.* 2012;35(10):826-31.
- ✓ Dalton CB, Ørstavik D, Phillips C. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod.* 1998;24:763-767.

- ✓ Dametto FR, Ferraz CC, de Almeida Gomes BP, Zaia AA, Texeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99:768-72.
- ✓ De-Deus G, Brandão MC, Barino B, Di Giorgi K, Fidel RA, Luna AS. Assessment of apically extruded debris produced by the single-file ProTaper F2 technique under reciprocating movement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110:390-4.
- ✓ De-Deus G, Moreira EJ, Lopes HP, Elias CN. Extended cyclic fatigue life of F2 ProTaper instruments used in reciprocating movement. *Int Endod J.* 2010;43:1063-8.
- ✓ Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002;28:689-93.
- ✓ Dolan DW, Craig RG. Bending and torsion of endodontic files with rhombus cross sections. *J Endod.* 1982;8:260-4.
- ✓ Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, Batista de Faria-Júnior N, Hungaro-Duarte MA, Kuga MC, Tanomaru-Filho M, Bauru, SP. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(3):396-400.

TESIS DOCTORAL

- ✓ Eldeeb ME, Boraas JC. The effect of different files on the preparation shape of severely curved canals. *Int Endod J.* 1985;18:1-7.
- ✓ El Karim I, Kennedy J, Hussey D. The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;103:560-9.
- ✓ Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res.* 1977;85(4):255-65.
- ✓ European Society of Endodontontology. Consensus report of the European Society of Endodontontology on quality guidelines for endodontic treatment. *Int Endod J.* 1994;27:115-24.
- ✓ Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2002;35(3):221-8.
- ✓ Ferrer-Luque CM, Conde-Ortiz A, Arias-Moliz MT, Valderrama MJ, Baca P. Residual activity of chelating agents and their combinations with cetrimide on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2012;38:826-8.
- ✓ Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18:234-9.
- ✓ Fogarty TJ, Montgomery S. Effect of preflaring on canal transportation. Evaluation of ultrasonic, sonic, and

conventional techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991;72:345-50.

- ✓ Fornari VJ, Silva-Sousa YT, Vanni JR, Pécora JD, Versiani MA, Sousa-Neto MD. Histological evaluation of the effectiveness of increased apical enlargement for cleaning the apical third of curved canals. *Int Endod J.* 2010;43:988-94.
- ✓ Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, Malagnino VA. SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. *Int Endod J.* 2004;37:832-839.
- ✓ Gambarini G. Shaping and cleaning the root canal system: a scanning electron microscopic evaluation of a new instrumentationand irrigationtechnique. *J Endod.* 1999;25:800-3.
- ✓ Gambarini G, Grande NM, Plotino G, Somma F, Garala M, De Luca M, Testarelli L. Fatigue resistance of engine-driven rotary nickel-titanium instruments produced by new manufacturing methods. *J Endod.* 2008;34(8):1003-5.
- ✓ 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(12):867-72.
- ✓ Gergi R, Rjeily JA, Sader J, Naaman A. Comparison of canal transportation and centering ability of twisted files,

Pathfile-ProTaper system, and stainless steel hand K-files by using computed tomography. J Endod. 2010;36:904-7.

- ✓ Giardino L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. J Endod. 2006;32:1091-3.
- ✓ Goerig A, Michelich R, Schultz H. "Instrumentation Of Root Canals In Molar Using Step-Down Technique". J Endod. 1982;8:550-554.
- ✓ Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Texeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2001;34:424-8.
- ✓ Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiol Immunol. 2004;19:71-6.
- ✓ Gorduysus M, Nagas E, Torun OY, Gorduysus O. A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal. Aust Endod J. 2011;37:128-33.
- ✓ Gutmann JL, Gao Y. Alteration in the inherent metallic and surface properties of nickel-titanium root canal instruments

to enhance performance, durability and safety: a focused review. *Int Endod J.* 2012;45:113-28.

- ✓ Haapasalo M, Qian W, Portenier I, et al. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod.* 2007;33:917-25.
- ✓ Hales JJ, Jackson CR, Everett AP, Moore SH. Treatment protocol for the management of a sodium hypochlorite accident during endodontic therapy. *Gen Dent.* 2001;49:278-81.
- ✓ Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *Int Endod J.* 2003;36(2):75-85.
- ✓ Hayashi M, Takahashi Y, Hirai M, Iwami Y, Imazato S, Ebisu S. Effect of endodontic irrigation on bonding of resin cement to radicular dentin. *Eur J Oral Sci.* 2005;113(1):70-6.
- ✓ Hülsmann M, Rummelin C, Schafers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. *J Endod.* 1997;23:301-6.
- ✓ Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation: literature review and case reports. *Int Endod J.* 2000;33:186-93.

- ✓ James A. Wealleans, Timothy C. Kirkpatrick, Richard E. Rutledge. The effects of dentin debris on the cyclic fatigue resistance of several nickel titanium rotary systems. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(3):390-5
- ✓ Jeansson MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod.* 1994;20:276-8.
- ✓ 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;33:48-51.
- ✓ Kim HC, Yum J, Hur B, Cheung GS. Cyclic fatigue and fracture characteristics of ground and twisted nickeltitanium rotary files. *J Endod.* 2010;36:147–52.
- ✓ Kishen A, Sum CP, Mathew S, et al. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. *J Endod.* 2008;34:850–4.
- ✓ Kreft B, Marre A, Schamm U, Wirth R. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect Immun.* 1992;60:25–30.
- ✓ Lana MA, Ribeiro-Sobrinho AP, Stehling R, Garcia GD, Silva BKC, Hamdan JS, Nicoli JR, Carvalho MAR, Farias L de M. Microorganisms isolated from root Canals presenting

necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. Oral Microbiol Immunol. 2001;16:100-5.

- ✓ Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. Oral Microbiol Immunol. 1997;12:318-22.
- ✓ Lewis CM, Zervos MJ. Clinical manifestations of enterococcal infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1990;9:111-7.
- ✓ Love RM, McMillan MD, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral streptococci is associated with collagen recognition mediated by the antigen I/II family of polypeptides. Infection and Immunity. 1997;65:5157-64.
- ✓ Love RM. *Enterococcus faecalis*: a mechanism for its role in endodontic failure, Int Endod J. 2001;34:399-405.
- ✓ MacCallum WG, Hastings TW. A Case of Acute Endocarditis Caused by *Micrococcus Zymogenes* (Nov. Spec.), with a Description of the Microorganism. J Exp Med. 1899;4(5-6):521-34.
- ✓ Machado ME, Sapia LA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK. Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. J Endod. 2010;36:1238-40.
- ✓ Machado ME, Nabeshima CK, Leonardo MF, Reis FA, Britto ML, Cai S. Influence of reciprocating single-file and rotary

instrumentation on bacterial reduction on infected root canals.
Int Endod J. 2013;46(11):1083-7.

- ✓ Marley JT, Ferguson DB, Hartwell GR. Effects of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: short-term results. J Endod. 2001;27(12):775-8.
- ✓ Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO. Effectiveness of three instrumentation systems to remove Enterococcus faecalis from root canals. Int Endod J. 2012;45:435-8.
- ✓ Moellering RC. Antimicrobial susceptibility of enterococci: in vitro studies of the action of the antibiotics alone or in combination. In: Bisno L, editor. Treatment of infective endocarditis. New York: Grune and Stratton; 1981.p.81-96.
- ✓ Molander A, Reit C, Dahlén G, et al. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J. 1998;31:1-7.
- ✓ Morgan LF, Montgomery S. An evaluation of the crown-down pressureless technique. J Endod. 1984;10:491-8.
- ✓ Murray BE. The life and times of the Enterococcus. Clin Microbiol Rev. 1990;3:46-65. Review.
- ✓ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, Gavini G. Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46(3):217-24.

- ✓ Nygaard-Östby B. Chelation in root canal therapy: Ethylenediamine tetra-acetic acid for cleansing and widening of root Canals. *Odontol Tskr.* 1957;65:3-11.
- ✓ Paranjpe A, de Gregorio C, Gonzalez AM, Gomez A, Silva Herzog D, Piña AA, Cohenca N. Efficacy of the self-adjusting file system on cleaning and shaping oval canals: a microbiological and microscopic evaluation. *J Endod.* 2012;38(2):226-31.
- ✓ Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, et al. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J.* 2001;34:429-34.
- ✓ Piard JC, Desmazeaud M. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. I. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait* 1992;71:525-41.
- ✓ Plotino G, Grande NM, Sorci E, Malagnino VA, Somma F. A comparison of cyclic fatigue between used and new Mtwo NiTi rotary instruments. *Int Endod J.* 2006;39:716-23.
- ✓ Plotino G, Grande NM, Falanga A, Di Giuseppe IL, Lamorgese V, Somma F. Sentine removal in the coronal portion of root canals following two preparation techniques. *Int Endod J.* 2007;40:852-858.
- ✓ Ramachandran Nair PN. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod.* 1987;13:29-39.

TESIS DOCTORAL

- ✓ Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KRN, Coelho AMA. "Red Complex" (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema dentícola*) in endodontic infections: a molecular approach. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91:468-71.
- ✓ Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004;30:315-20.
- ✓ Rôças IN, Lima KC, Siqueira JF Jr. Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation--a clinical study. *Int Endod J.* 2013;46(7):681-7.
- ✓ Rodrigues RC, Lopes HP, Elias CN, Amaral G, Vieira VT, De Martin AS. Influence of different manufacturing methods on the cyclic fatigue of rotary nickel-titanium endodontic instruments. *J Endod.* 2011;37:1553-7.
- ✓ Russell A, Hugo W, Ayliffe G, ed. *Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization.* 3º Ed. Oxford: Blackwell Science: 1999.p:124-48.
- ✓ Sakamoto M, Siqueira JF Jr, Rôças IN, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22:19-23.
- ✓ Sauáia TS, Gomes BP, Pinheiro ET, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microleakage evaluation of intraorifice

sealing materials in endodontically treated teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(2):242-6.

- ✓ Schäfer E, Erler M, Dammaschke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals. *Int Endod J.* 2006a;39:196-202.
- ✓ Schäfer E, Erler M, Dammaschke T. Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments: part 2—cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J.* 2006b;39:203-12.
- ✓ Schäfer E, Oitzinger M. Cutting efficiency of five different types of rotary nickel-titanium instruments. *J Endod.* 2008;34:198-200.
- ✓ Schidler H. Clearing and shaping the root canal. *Dent Clin North Am.* 1974;18:269-96.
- ✓ Sedgley CM, Lennan SL, Appelde OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J.* 2005;38:735-742.
- ✓ Segura JJ, Calvo JR, Guerrero JM, Sampedro C, Jimenez A, Llamas R. The disodium salt of EDTA inhibits the binding of vasoactive intestinal peptide to macrophage membranes: endodontic implications. *J Endod.* 1996;22(7):337-40.

- ✓ Segura JJ, Calvo JR, Guerrero JM, Jimenez-Planas A, Sampedro C, Llamas R. EDTA inhibits in vitro substrate adherence capacity of macrophages: endodontic implications. *J Endod.* 1997;23(4):205-8.
- ✓ Serper A, Calt S, Dogan AL, Guc D, Ozçelik B, Kuraner T. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. *J Oral Sci.* 2001;43(4):233-8.
- ✓ Sherman JM. The streptococci. *Bacteriol Rev.* 1937;1:3-97.
- ✓ Shuping GB, Orstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod.* 2000;26:751-5.
- ✓ Singla M, Aggarwal V, Logani A, Shah N. Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in Enterococcus faecalis colony-forming units and vertical root fracture resistance of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:105-10.
- ✓ Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of Enterococcus faecalis from the root canal in vitro. *Inter Endod J.* 1997;30:279-82.

- ✓ Siqueira JF Jr, Lima KC, Magalhães FA, Lopes HP, de Uzedo M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod.* 1999;25(5):332-5.
- ✓ Siqueira JF Jr, Rôças IN, Santos SR, Lima KC, Magalhães FA, de Uzedo M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod.* 2002;28(3):181-4.
- ✓ Siqueira JF, Rôças IN, Souto R, de Uzedo M, Colombo A. Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. *J Endod.* 2002;28(3):168-72
- ✓ Siqueira JF Jr., Rôças IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: part 1-current molecular technologies for microbiological diagnosis. *J Endod.* 2005;31:411-423.
- ✓ Siqueira JF Jr. and Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34:1291-1301.
- ✓ Siqueira JF Jr, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Rôças IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. *J Endod.* 2010;36:1860-5.

- ✓ Siqueira JF Jr, Alves FR, Versiani MA, Rôças IN, Almeida BM, Neves MA, Sousa-Neto MD. Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by self-adjusting file, reciproc, and twisted file systems. *J Endod.* 2013; 39(8):1044-50.
- ✓ Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30:297-306.
- ✓ Spångberg L, Engstrom B, Langeland K. Biological effects of dental materials. Part 3. Toxicity and antimicrobial effects on endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg.* 1973;36:856-71.
- ✓ 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.
- ✓ Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Inmunol.* 1992;7:257-62.
- ✓ Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992;18:427-30.
- ✓ Taşman F, Cehreli ZC, Oğan C, Etikan I. Surface tension of root canal irrigants. *J Endod.* 2000;26(10):586-7.

- ✓ Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic entorococci: new developments in the 21st century. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60:2622-36.
- ✓ Thiercelin ME. Sur un diplocoque saprophyte de l'intestin susceptible de devenir pathogen. *CR Soc Biol.* 1899;5:269-71.
- ✓ Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(6):658-66. Review
- ✓ Türkün M, Cengiz T. The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness. *Inter Endod J.* 1997;30:335-42.
- ✓ Uroz-Torres D, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Effectiveness of a manual glide path on the preparation of curved root canals by using Mtwo rotary instruments. *J Endod.* 2009;35:699-702.
- ✓ Usman N, Baumgartner JC, Marshall JG. Influence of instrument size on root canal debridement. *J Endod.* 2004;30:110-2.
- ✓ Varela-Patino P, Ibanez-Parraga A, Rivas-Mundina B, Cantatore G, Otero XL, Martin-Biedma B. Alternating versus continuous rotation: a comparative study of the effect on instrument life. *J Endod.* 2010;36:157-9.

- ✓ Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Recovery of Enterococcus faecalis after single or multiple visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *Int Endod J.* 2005;38:697-704.
- ✓ Wan J, Rasimick BJ, Musikant BL, Deutsch AS. A comparison of cyclic fatigue resistance in reciprocating and rotary nickel-titanium instruments. *Aust Endod J.* 2011;37:122-7.
- ✓ Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, et al. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. *J Endod.* 2003;29:562-4.
- ✓ Webber J, Machtou P, Pertot W, Kuttler S, Ruddle C, West J. The WaveOne single-file reciprocating system. *Roots.* 2011;1:28-33.
- ✓ West JD, Roane JB, Goerig AC. Cleaning and shaping the root canal system. In: Cohen S, Burns RC, eds. *Pathways of the Pulps*, 6th edn. St. Louis, MO, USA: Mosby. 1994;179-218.
- ✓ Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: part 3. *J Endod.* 1983;9:137-42.

BIBLIOGRAFÍA

- ✓ Yamaguchi M, Yoshida K, Suzuki R, Nakamura H. Root canal irrigation with citric acid solution. *J Endod.* 1996;22(1):27-9.
- ✓ Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endod.* 1995;21(10):513-5.
- ✓ Young GR, Parashos P, Messer HH. The principles of techniques for cleaning root canals. *Aust Dent J.* 2007;52:S52-63.
- ✓ Zamany A, Safavi K, Spångberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96(5):578-81.
- ✓ Zehnder M, Kosicki D, Luder H, Sener B, Waltimo T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(6):756-62.



PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Resultados parciales de este trabajo de Tesis Doctoral han sido publicados e informados previamente a la siguiente revista científica y Congreso:

Publicación:

Ferrer-Luque CM, Bejarano I, Ruiz-Linares M, Baca P. Reduction in *Enterococcus faecalis* counts - a comparison between rotary and reciprocating systems. Int Endod J. 2014;47(4):380-6. (ANEXO I)

Congreso:

XXXIII Congreso Nacional Asociación Española de Endodoncia (AEDE) Cádiz 1, 2 y 3 de noviembre de 2012.

Título: Reducción Mecánica de *Enterococcus Faecalis* con Mtwo, Twisted Files y WaveOne

ANEXO I

**INTERNATIONAL
ENDODONTIC JOURNAL**

doi:10.1111/iej.12158

Reduction in *Enterococcus faecalis* counts – a comparison between rotary and reciprocating systems

C. M. Ferrer-Luque, I. Bejarano, M. Ruiz-Linares & P. Baca
Department of Stomatology, School of Dentistry, University of Granada, Granada, Spain

Abstract

Ferrer-Luque CM, Bejarano I, Ruiz-Linares M, Baca P. Reduction in *Enterococcus faecalis* counts – a comparison between rotary and reciprocating systems. *International Endodontic Journal*, **47**, 380–386, 2014.

Aim To compare the chemomechanical reduction and regrowth of *Enterococcus faecalis* between rotary and reciprocating systems in root canal preparation.

Methodology Seventy-six single-rooted human mandibular premolars were selected and standardized to 15 mm in length. Root canals were enlarged up to a size 25 K-file and irrigated with distilled water and then were infected with *E. faecalis* for 4 weeks. The specimens were divided into 3 groups ($n = 24$) for instrumentation with Mtwo, Twisted File and WaveOne. Each group was further divided into two subgroups ($n = 12$) according to the irrigant used: distilled water or 5.25% sodium hypochlorite (NaOCl). Before and after rotary preparation, microbiological samples were collected using three sterilized paper points, and efficacy was expressed as reduction in percentage. The proportion of grown samples for 60 days

was evaluated using nonparametric Kaplan–Meier survival analysis. Differences amongst groups were tested using the log-rank test at a significance level of 0.05.

Results In the main root canal, the percentage reduction in the distilled water and 5.25% NaOCl groups ranged from 95.9% to 100%, with no significant differences amongst the three systems ($P > 0.05$). The bacterial regrowth in NaOCl groups revealed that Mtwo had the lowest number of samples regrown at 60 days, giving statistically significant differences with respect to Twisted File ($P = 0.029$) and WaveOne ($P = 0.005$).

Conclusions Reciprocating and rotary systems resulted in similar percentage reduction in *E. faecalis* when using either distilled water or 5.25% NaOCl solution. Over time, the Mtwo system was more effective regarding disinfection.

Keywords: biofilms, *Enterococcus faecalis*, Mtwo, regrowth, Twisted File, WaveOne.

Received 21 February 2013; accepted 30 June 2013

Introduction

The main goals of root canal treatment are the microbial decontamination and prevention of recontamination of the root canal system. Most NiTi rotary instruments operate in rotary motion. In recent years, different designs (Bonaccorso *et al.* 2009) and manufacturing processes (Gambarini *et al.* 2008) were introduced to minimize procedural errors and the risk of instrument fracture. For example, Mtwo rotary files (VDW, Munich, Germany) offer improved cutting efficiency (Schäfer & Oitzinger 2008) and when used to the full working length demonstrated better cleaning effectiveness and shaping ability in curved root canals (Schäfer *et al.* 2006a,b). Likewise, Twisted File rotary instruments (SybronEndo, Orange, CA, USA), when using a crown-down technique, had greater

Correspondence: Inmaculada Bejarano, Department of Stomatology, School of Dentistry, Campus de Cartuja, Colegio Máximo s/n., E-18071 Granada, Spain (Tel.: 34-958-250989; fax: 34-958-240908; e-mail: odontopbd@gmail.com).

380 International Endodontic Journal, 47, 380–386, 2014 © 2013 International Endodontic Journal. Published by John Wiley & Sons Ltd

resistance to cyclic fatigue compared with other NiTi files manufactured using a milling process (Kim *et al.* 2010, Rodrigues *et al.* 2011); they maintained the original canal with better centring scores and minimal transportation (Gergl *et al.* 2010).

Reciprocating motion in root canal preparation was recently introduced to promote a lower cyclic fatigue of instruments compared with rotary systems (De-Deus *et al.* 2010), reducing the incidence of unexpected file fracture (You *et al.* 2011). The WaveOne system (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) is a single-file NiTi system, manufactured with M-Wire NiTi alloy (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA). It consists of three single-use files (size 21, 0.06 taper, size 25, 0.08 taper and size 40, 0.08 taper) designed to shape the root canal with a reverse-cutting action rotation (170° counterclockwise, then 50° clockwise) using a pre-programmed motor. In conjunction with this system, a glide path is recommended to reduce canal modifications (Berutti *et al.* 2012a,b) and to check the working length before preparation of the apical third of the root canals to reduce the incidence of overinstrumentation (Berutti *et al.* 2011). Reciprocating systems lead to fewer procedural errors than rotary systems during root canal shaping, even in the apical part of curved canals (You *et al.* 2011, Berutti *et al.* 2012a,b). Apart from its documented benefits (Yared 2008, Bürklein *et al.* 2012, Kim *et al.* 2012), it is more cost-effective, and the learning curve for practitioners is shorter (De-Deus *et al.* 2010, Bürklein *et al.* 2012).

The outcome of root canal treatment is influenced by the presence of bacteria in the root canal. It is, therefore, essential to achieve a bacterial load low enough to make it compatible with periradicular tissue healing (Siqueira & Rögas 2008). During treatment, most of these microorganisms are eliminated by chemomechanical preparation involving endodontic instruments and irrigants (Rögas & Siqueira 2010), and the consequent bacterial load may be so low that very sensitive detection methods are required for detection (Rögas *et al.* 2013).

The mechanical action of instrumentation is effective for bacterial reduction even when no antibacterial irrigants were used (Bystrom & Sundqvist 1981, Dalton *et al.* 1998, Siqueira *et al.* 1999). Most studies evaluate hand and automated instrumentation techniques using rotary systems (Berber *et al.* 2006, Machado *et al.* 2010, Singla *et al.* 2010, Gordusus *et al.* 2011, Matos Neto *et al.* 2012, Nakamura *et al.* 2013).

The aims of this study were as follows: (i) to compare the mechanical reduction in *Enterococcus faecalis* count using Mtwo, Twisted File and WaveOne instruments and (ii) to determine *E. faecalis* regrowth over a time period of 60 days.

Materials and methods

Selection and preparation of teeth

Seventy-six single-rooted human mandibular premolars were stored in 0.1% thymol solution at 4 °C. Each tooth was radiographed to confirm the presence of a single root canal and then decoronated to obtain root specimens of 15 mm in length. Before instrumentation with rotary and reciprocating systems, the root canals were enlarged circumferentially using stainless K-files from size 15 up to 25 and were irrigated with distilled water. After debridement, the root canals were filled with 17% ethylenediaminetetraacetic acid solution for 1 min and then irrigated with 1% sodium hypochlorite solution followed by sterile distilled water. The apical foramen was then sealed with cyanoacrylate cement.

To allow the handling of the roots during instrumentation, a customized model of each tooth was fabricated with polyvinyl siloxane impression material (Zhermack, Rovigo, Italy), following a methodology described previously (Baca *et al.* 2011). Each specimen was placed in an Eppendorf tube with sterile brain–heart infusion broth (BHI) (Scharlab, Barcelona, Spain), and the specimens and models were sterilized in an autoclave at 121 °C, 15 psi, for 30 min.

Contamination with *Enterococcus faecalis*

The bacteria used in this study were *E. faecalis* ATCC 29 212 from a 4 °C stock culture and streaked out twice on brain–heart infusion (BHI; Scharlab Chemie SA, Barcelona, Spain) agar plates for 24 h at 37 °C. From the subculture of *E. faecalis*, a 1 McFarland standard suspension was prepared in BHI broth and then diluted 30-fold to obtain an initial bacterial suspension of 1×10^7 colony-forming units (CFU) per millilitre. The Eppendorf tubes containing the sterilized samples were opened under a laminar flow hood and were inoculated with the initial bacterial suspension using a sterile pipette (Baca *et al.* 2011). The specimens were incubated for 4 weeks at 37 °C, and fresh BHI medium was added every 7 days. After the incubation period, and again in a laminar flow hood, the

specimens were removed from the tubes and placed in their customized models. A size 15 K-file (Dentsply Maillefer) was placed in the canal to within 1 mm of working length, and the canal was circumferentially filed for 10 s. Samples were then collected using three sterilized size 20 paper points (Dentsply Maillefer) placed in the canal for 10 s each. The paper points were transferred to an Eppendorf tube containing 500 µL of BHI broth and vortexed for 30 s for serial dilutions. For quantitative bacterial assessment, each dilution was seeded on plates containing BHI agar medium, and they were incubated at 37 °C for 48 h, at which time the CFUs were counted.

Root canal preparation

The specimens were divided into three groups ($n = 24$) according to the automated system used and were as follows: Mtwo, Twisted Files and WaveOne. Each group was further divided into two subgroups ($n = 12$) according to the irrigant used: distilled water or 5.25% NaOCl. The total volume used for preparation was standardized to 18 mL. The canals were irrigated at each instrument change with 2 mL of irrigating solution using an endodontic needle attached to a 5-mL Luer lock syringe. A final rinse was performed using 10 mL of the respective irrigating solution. Four roots that were not instrumented and not infected served as sterility controls.

Instrumentation by means of the three automated systems was carried out according to manufacturers' instructions: Mtwo files in the sequence size 25, 0.06 taper, size 30, 0.06 taper, size 35, 0.06 taper and size 40, 0.04 taper were introduced directly to the working length; Twisted Files in the sequence size 25, 0.06 taper, size 30, 0.06 taper, size 35, 0.06 taper and size 40, 0.04 taper in crown-down technique; and WaveOne system in crown-down technique with a size 40, 0.08 taper single file. After instrumentation, the root canals were filled with BHI broth. Samples were then collected as described above (to obtain the initial sample), and the results co-related to the main root canal were expressed as the number of CFUs.

Regrowth determination

In no specimens in groups irrigated with NaOCl, could *E. faecalis* be isolated just after instrumentation, although bacteria could remain inside the dentinal tubules. In these specimens, the determination of *E. faecalis* re-growth was carried out over time. The

methodology used was as follows: the specimens were refilled with the same broth, and samples were collected daily for 60 days. All collected samples were incubated for 24 h at 37 °C. Turbidity was considered an indication of bacterial regrowth. Once turbidity was present, a sample of the turbid broth was streaked onto blood agar plates, and bacteria were identified to ensure that there was no contamination other than by *E. faecalis*.

Statistical analysis

The efficacy, against *E. faecalis*, using the three automated systems was expressed as percentage reduction and calculated for each group as follows: $(1 - [\text{CFUs pre-instrumentation}/\text{CFUs post-instrumentation}] \times 100)$. To compare percentage reduction of the three instrumentation systems, the Student's *t*-test was used, previously subjecting data to the Anscombe transformation. The proportion of regrown samples over 60 days was evaluated using nonparametric Kaplan-Meier survival analysis. The term 'survival' was used on the understanding that a specimen survives when there is no *E. faecalis* regrowth at a given time. The overall evolution of growth of *E. faecalis* in the samples was analysed taking into account the entire time period, not just at one or more intervals in time. Differences amongst groups were analysed using the log-rank test at a significance level of 0.05. All statistical analyses were performed by means of SPSS 17.0 software (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Results

No bacterial growth was detected in the sterility control teeth during the study period, thus ensuring the sterile condition of the root canal system before contamination with *E. faecalis*. In the main root canal, and just after instrumentation, the percentage reduction in groups with distilled water was greater than 95%: Mtwo 95.9%, Twisted Files 96.2% and WaveOne 98.3%. Analysis of results showed that the differences amongst groups were not statistically significant ($P > 0.05$) (Table 1). As none of the specimens in groups irrigated with 5.25% NaOCl yielded bacteria after instrumentation, the percentage reduction in the main root canal was 100%.

The number of grown samples and the median of bacterial regrowth in NaOCl groups are shown in Table 2. The results of Kaplan-Meier survival analysis are shown in Fig. 1. Paired comparisons determined

Table 1 Reduction in percentage of *Enterococcus faecalis* with rotary instrumentation systems using distilled water and NaOCl ($n = 12$ group)

Group	Before instrumentation	After instrumentation	Reduction percentage
	(Log10 CFU + 1/mL) Mean \pm SD	(Log10 CFU + 1/mL) Mean \pm SD	Mean \pm SD
Mtwo	6.33 \pm 0.33	4.68 \pm 0.51	95.90 \pm 3.8*
Distilled water	6.24 \pm 0.76	0	100
NaOCl	6.22 \pm 0.38	4.52 \pm 0.42	96.19 \pm 4.7*
Twisted File	6.10 \pm 0.95	0	100
WaveOne	6.90 \pm 0.21	4.82 \pm 0.65	98.27 \pm 2.5*
Distilled water	6.69 \pm 0.40	0	100
NaOCl			

SD, Standard deviation.

Comparison by Student's t-test previously subjecting data to the Anscombe transformation.

P value: Mtwo versus Twisted File: $P = 0.877$; Mtwo versus WaveOne: $P = 0.064$; Twisted File versus WaveOne: $P = 0.133$.

*No statistically significant differences.

Machado et al. 2010, Singla et al. 2010, Matos Neto et al. 2012, Nakamura et al. 2013). However, it is known that bacteria penetrate deep into dentinal tubules (Chivatxaranukul et al. 2008), making their complete elimination difficult, and bacterial regrowth may occur in root canals.

Enterococcus faecalis was selected for the study because it is a commonly isolated species from persistent apical periodontitis (Peculiaene et al. 2001), penetrating deep into dentinal tubules (Haapasalo & Ørstavik 1987) to form communities organized in biofilms, which may contribute to bacterial resistance to intracanal antimicrobial procedures (Vivacqua-Gomes et al. 2005).

In this study, the root canals were pre-enlarged to a size 25 K-file in order to facilitate bacterial penetration into dentinal tubules as well as to standardize the subsequent instrumentation. Unlike other studies (Machado et al. 2010, Gordusys et al. 2011), the specimens were infected with *E. faecalis* for 4 weeks given that previous reports demonstrated (Haapasalo & Ørstavik 1987, Weiger et al. 2002) that the longer the incubation time, the deeper the bacteria penetrated into dentinal tubules. This makes it harder to eliminate them from the infected root canal (Chivatxaranukul et al. 2008), a situation often encountered in clinical practice (Nakamura et al. 2013).

Sterile distilled water was used as an irrigating solution, because it exerts no antibacterial effect on *E. faecalis*, so the elimination of bacteria could only be attributed to the mechanical action of the instrumentation (Machado et al. 2010, Singla et al. 2010). A 5.25% NaOCl solution was chosen in view of its antimicrobial efficacy in reducing *E. faecalis* within root canals and dentinal tubules in conjunction with hand and rotary instrumentation techniques (Berber et al. 2006, Nakamura et al. 2013).

When distilled water was used, it was found that the percentage of bacterial reduction achieved by the two rotary systems showed overlapping values of 95.9% (Mtwo) and 96.2% (Twisted File). This is probably due to the use of instruments with the same taper and size to prepare the root canals. Machado et al. (2010) showed a reduction in *E. faecalis* of 84.3% with Mtwo files (up to size 30, 0.05 taper) and 81.94% with ProTaper (up to F2, size 30, 0.06 taper) in the distobuccal canal of maxillary molars. The larger sizes and greater taper of the instruments used in the preparation of the specimens would explain the higher percentage of bacterial reduction found with Mtwo and Twisted File. The greatest reduction in

Table 2 *Enterococcus faecalis* regrowth after instrumentation irrigating with NaOCl. Number of grown samples and median of day of regrowth. $n = 12$ /group

	Number of grown samples	Lower bound	Higher bound	Median
Mtwo ^a	2	39	>60	>60
Twisted File ^b	7	2	>60	45
WaveOne ^b	8	1	>60	11

The same superscript letter shows differences that were not statistically significant determined by the log-rank test ($P < 0.05$).

by the log-rank test showed longer overall survival in the Mtwo group, which was statistically significant compared with the two other groups.

Discussion

Cleaning and disinfection of root canals are dependent on the mechanical instrumentation and chemical effects of the irrigants used. Newer designs of NiTi rotary instruments decrease the incidence of iatrogenic events and improve the safety of root canal preparation (Sattapan et al. 2000). There was quantifiable difference in bacterial reduction when an antimicrobial irrigant was used (Berber et al. 2006,

Mechanical disinfection with automated systems Ferrer-Luque et al.

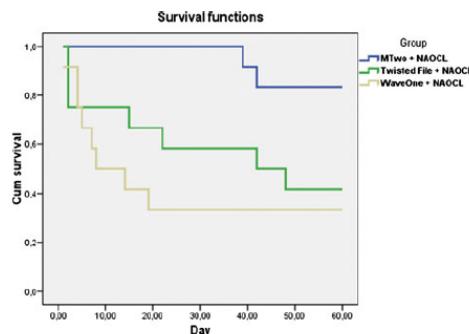


Figure 1 Kaplan-Meier survival probabilities at 60 days (probability of no regrowth) for NaOCl groups. Cumulative survival: percentage of samples that did not show *Enterococcus faecalis* regrowth at a given time.

bacteria obtained, using the WaveOne reciprocating system (although without statistical differences), could likewise be attributed to the greater taper (0.08) with respect to the other instruments tested (0.04) and/or to the greater area of contact between the instrument and the canal walls with the reciprocating motion (Franco *et al.* 2011).

Regardless of the preparation technique, the results of this study showed that irrigation with 5.25% NaOCl achieves 100% reduction immediately after instrumentation of root canals infected with *E. faecalis*. This is in agreement with a recent study (Nakamura *et al.* 2013); in this study, the bacteria were not fully eliminated from the dentinal tubules, and bacterial regrowth took place in the 60-day study period with all three instrumentation systems. The number of regrown samples was significantly lower with Mtwo compared with Twisted Files and WaveOne, which may be attributed to the difference in instrumentation techniques. The full working length technique could enhance the antibacterial effectiveness of the irrigating solution, through the instrument, which would allow irrigant contact-action all along the root canal as soon as the first instrument was used. Thus, a longer contact time of the disinfectant solution with the root dentine walls could facilitate its introduction deeper into the dentinal tubules. The smaller cross-section of the Mtwo rotary files might also contribute to a greater amount of irrigating solution in the full length of the canal during preparation. Further research is needed to understand whether the better disinfection obtained using Mtwo is due to one or more of the above factors.

Conclusions

Given the limitations of this study, it may be concluded that reciprocating system provided similar percentage reduction in *E. faecalis* compared with rotary systems using distilled water. A 5.25% NaOCl solution totally eliminated *E. faecalis* from the main root canal, but not inside the dentinal tubules. Mtwo was more effective than Twisted File and WaveOne systems.

Acknowledgements

The authors thank Francisca Castillo Pérez for her technical assistance. This study was supported by the Research Group CTS-167 of the Junta de Andalucía, Spain.

References

- Baca P, Mendoza-Jimánez ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM (2011) Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *Journal of Endodontics* **37**, 1121–3.
- Berber VB, Gomes BP, Sena NT *et al.* (2006) Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *International Endodontic Journal* **39**, 10–7.
- Berutti E, Chiandussi G, Paolino DS *et al.* (2011) Effect of canal length and curvature on working length alteration with WaveOne reciprocating files. *Journal of Endodontics* **37**, 1687–90.

- Berutti E, Paolino DS, Chiandussi G et al. (2012a) Root canal anatomy preservation of WaveOne reciprocating files with or without glide path. *Journal of Endodontics* **38**, 101–4.
- Berutti E, Chiandussi G, Paolino DS et al. (2012b) Canal shaping with WaveOne primary reciprocating files and ProTaper system: a comparative study. *Journal of Endodontics* **38**, 505–9.
- Bonacorso A, Cantatore G, Condorelli GG, Schäfer E, Tripi TR (2009) Shaping ability of four nickel-titanium rotary instruments in simulated S-shaped canals. *Journal of Endodontics* **35**, 883–6.
- Bürklein S, Hinschitzka K, Dammashke T, Schäfer E (2012) Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth: reciproc and WaveOne versus Mtwo and ProTaper. *International Endodontic Journal* **45**, 449–61.
- Byström A, Sundqvist G (1981) Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scandinavian Journal of Dental Research* **89**, 321–8.
- Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH (2008) Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal* **41**, 873–82.
- Dalton BC, Ørstavik D, Phillips C, Pettiette M, Trope M (1998) Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *Journal of Endodontics* **24**, 763–7.
- De-Deus G, Moreira EJ, Lopes HP, Elias CN (2010) Extended cyclic fatigue life of F2 Pro-Taper instruments used in reciprocating movement. *International Endodontic Journal* **43**, 1063–8.
- Franco V, Fabiani C, Taschieri S, Malenfaccia A, Bortolin M, Del Fabbro M (2011) Investigation on the shaping ability of nickel-titanium files when used with a reciprocating motion. *Journal of Endodontics* **37**, 1398–401.
- Gambairini G, Grande NM, Plotino G et al. (2008) Fatigue resistance of engine-driven rotary nickel-titanium instruments produced by new manufacturing methods. *Journal of Endodontics* **34**, 1003–5.
- Gergi R, Rjelly JA, Sader J, Naaman A (2010) Comparison of canal transportation and centering ability of twisted files, Pathfile-ProTaper system, and stainless steel hand K-files by using computed tomography. *Journal of Endodontics* **36**, 904–7.
- Gordusus M, Nagas E, Torun OY, Gordusus O (2011) A comparison of three rotary systems and hand instrumentation technique for the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal. *Australian Endodontic Journal* **37**, 128–33.
- Haapasalo M, Ørstavik D (1987) In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *Journal of Dental Research* **66**, 1375–9.
- Kim HC, Yum J, Hur B, Cheung GS (2010) Cyclic fatigue and fracture characteristics of ground and twisted nickel-titanium rotary files. *Journal of Endodontics* **36**, 147–52.
- Kim HC, Kwak SW, Cheung GS, Ko DH, Chung SM, Lee W (2012) Cyclic fatigue and torsional resistance of two new nickel-titanium instruments used in reciprocation motion: reciproc versus WaveOne. *Journal of Endodontics* **38**, 541–4.
- Machado ME, Sapia IA, Cai S, Martins GH, Nabeshima CK (2010) Comparison of two rotary systems in root canal preparation regarding disinfection. *Journal of Endodontics* **36**, 1238–40.
- Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, Jorge AO (2012) Effectiveness of three instrumentation systems to remove *Enterococcus faecalis* from root canals. *International Endodontic Journal* **45**, 435–8.
- Nakamura VC, Cai S, Candreiro GT, Ferrari PH, Caldera CL, Gavini G (2013) Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. *International Endodontic Journal* **46**, 217–24.
- Peculiaene V, Reynaud AH, Balciuniene I et al. (2001) Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *International Endodontic Journal* **34**, 429–34.
- Rócas IN, Siqueira JF Jr (2010) Identification of bacteria enduring endodontic treatment procedures by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction and reverse-capture checkerboard approach. *Journal of Endodontics* **36**, 45–52.
- Rócas IN, Lima KC, Siqueira JF Jr (2013) Reduction in bacterial counts in infected root canals after rotary or hand nickel-titanium instrumentation – a clinical study. *International Endodontic Journal* **46**, 681–7.
- Rodrigues RC, Lopes HP, Elias CN, Amaral G, Vieira VT, De Martin AS (2011) Influence of different manufacturing methods on the cyclic fatigue of rotary nickel-titanium endodontic instruments. *Journal of Endodontics* **37**, 1553–7.
- Sattapani B, Nervo GJ, Palamara JE, Messer HH (2000) Defects in rotary nickel-titanium files after clinical use. *Journal of Endodontics* **26**, 161–5.
- Schäfer E, Oitzinger M (2008) Cutting efficiency of five different types of rotary nickel-titanium instruments. *Journal of Endodontics* **34**, 198–200.
- Schäfer E, Eder M, Dammashke T (2006a) Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments: part 1—shaping ability in simulated curved canals. *International Endodontic Journal* **39**, 196–202.
- Schäfer E, Eder M, Dammashke T (2006b) Comparative study on the shaping ability and cleaning efficiency of rotary Mtwo instruments: part 2—cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. *International Endodontic Journal* **39**, 203–12.
- Singh M, Aggarwal V, Logani A, Shah N (2010) Comparative evaluation of rotary ProTaper, Profile, and conventional stepback technique on reduction in *Enterococcus faecalis* colony forming units and vertical root fracture resistance of

TESIS DOCTORAL

Mechanical disinfection with automated systems Ferrer-Luque et al.

- root canals. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **109**, 105–10.
- Siqueira JF Jr, Rôças IN (2008) Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *Journal of Endodontics* **34**, 1291–301, e3.
- Siqueira JF Jr, Lima KC, Magalhães FA, Lopes HP, de Uzeda M (1999) Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *Journal of Endodontics* **25**, 332–5.
- Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ (2005) Recovery of *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *International Endodontic Journal* **38**, 697–704.
- Weiger R, de Lucena J, Decker HH, Lost C (2002) Vitality status of microorganisms in infected human root dentine. *International Endodontic Journal* **35**, 166–71.
- Yared G (2008) Canal preparation using only one Ni-Ti rotary instrument: preliminary observations. *International Endodontic Journal* **41**, 339–44.
- You SY, Kim HC, Bae KS, Baek SH, Kum KY, Lee W (2011) Shaping ability of reciprocating motion in curved root canals: a comparative study with micro-computed tomography. *Journal of Endodontics* **37**, 1296–300.