

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA



Eficacia de distintos protocolos de
irrigación en la desinfección de
conductos radiculares

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADO POR

SILVIA GONZÁLEZ CASTILLO

Bajo la dirección de las doctoras

Carmen María Ferrer Luque y Pilar Baca García

Granada, 2015

Editorial: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autora: Silvia González Castillo
ISBN: 978-84-9125-115-6
URI: <http://hdl.handle.net/10481/40214>



UGR | Universidad
de Granada



De acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 778/1998, de 30 de Abril, los abajo firmantes informamos:

Que los trabajos efectuados en la elaboración de la Tesis Doctoral titulada: “Eficacia de distintos protocolos de irrigación en la desinfección de conductos radiculares”, presentada por D^a Silvia González Castillo, han sido realizados bajo nuestra supervisión y dirección y reúnen las condiciones académicas necesarias para optar al Grado de Doctor, si así lo considera el Tribunal designado por la Universidad de Granada.

En Granada, a de de 2015.

Fdo. Profa. Carmen M^a Ferrer Luque

Fdo. Profa. Pilar Baca García

Departamento de Estomatología
Universidad de Granada

La doctoranda Silvia González Castillo 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 las directoras de la Tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza. En la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores al ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada

2015

Fdo. Carmen M^a Ferrer Luque

Fdo. Pilar Baca García

Silvia González Castillo

Agradecimientos

Una vez finalizada esta Tesis Doctoral me gustaría expresar, por medio de estas líneas, mi más sincero y profundo agradecimiento:

A las Dras. Carmen M^a Ferrer Luque y Pilar Baca García, directoras de esta investigación, por su orientación, asesoramiento y supervisión continua, pero sobre todo por su motivación y apoyo recibido a lo largo de todos estos años.

Al Dr. Mariano Valderrama Bonnet, del Dpto de Estadística e I.O., por el asesoramiento estadístico.

A la Dra. Matilde Ruíz Linares por su disponibilidad y ayuda.

A Francisca Castillo Pérez por su colaboración y apoyo desinteresado al trasmitirme parte de sus conocimientos.

A Yudi Gómez Villaescusa por su generosa implicación y asistencia técnica.

Por último, quiero dar las gracias a todas aquellas personas que, de una forma u otra, me han ayudado en su realización y me han servido de apoyo.

Dedicatoria

A mis padres Juan y Dolores, porque vuestro esfuerzo sea hoy vuestro mayor orgullo.

A mis hermanos José Manuel y Sonia, por vuestra ayuda incondicional.

A mi marido David, por motivarme día a día y recorrer junto a mí este largo camino. Gracias por ser mi principal apoyo. Lo logramos.

A mi hija Lucía, por esperarme al final de este recorrido y permitirme escribir estas líneas mientras duermes en mis brazos.



ÍNDICE

1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	1
2. REVISIÓN DOCTRINAL	7
2.1. ENTEROCOCCUS FAECALIS	9
<i>E. FAECALIS</i> EN LOS PROCESOS ENDODÓNTICOS	13
2.2. SOLUCIONES IRRIGADORAS EN ENDODONCIA	15
HIPOCLORITO DE SODIO.....	17
CLORHEXIDINA.....	19
CETRIMIDA.....	21
ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO.....	22
ÁCIDO CÍTRICO.....	24
ÁCIDO FOSFÓRICO.....	25
ÁCIDO MALEICO.....	26
SOLUCIONES COMBINADAS.....	27
2.3. INTERACCIONES ENTRE LAS SOLUCIONES IRRIGADORAS	31
INTERACCIÓN ENTRE HIPOCLORITO DE SODIO Y AGENTES QUELANTES.....	31
INTERACCIÓN ENTRE HIPOCLORITO DE SODIO Y CLORHEXIDINA.....	33
INTERACCIÓN ENTRE CLORHEXIDINA Y AGENTES QUELANTES	34
2.4. PROTOCOLOS DE IRRIGACIÓN EN ENDODONCIA	35
2.5. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS SOLUCIONES IRRIGADORAS FRENTE A BIOPELÍCULAS DE <i>E. FAECALIS</i>	36
3. MATERIAL Y MÉTODOS	41
3.1. MATERIAL	43
3.2. MÉTODOS	45
RECOGIDA DE LA MUESTRA.....	45
PREPARACIÓN DE LOS ESPECÍMENES Y ASIGNACIÓN ALEATORIA.....	46
INOCULACIÓN CON <i>E. FAECALIS</i>	47
RECOGIDA DE LA MUESTRA MICROBIOLÓGICA BASAL.....	48
INSTRUMENTACIÓN QUÍMICO-MECÁNICA DE LOS ESPECÍMENES.....	49
RECOGIDA DE LA MUESTRA MICROBIOLÓGICA FINAL.....	55
EVALUACIÓN DEL RECRECIMIENTO BACTERIANO.....	55
MÉTODOS ESTADÍSTICOS.....	56

4. RESULTADOS	59
4.1. EFICACIA DE LAS SOLUCIONES IRRIGADORAS A CORTO PLAZO	61
4.2. EFICACIA DE LAS SOLUCIONES IRRIGADORAS A LARGO PLAZO	63
5. DISCUSIÓN	73
5.1. VALIDEZ INTERNA DEL ESTUDIO	77
5.2. EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS PROTOCOLOS ENSAYADOS A CORTO PLAZO	82
5.3. EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS PROTOCOLOS ENSAYADOS A LARGO PLAZO	84
6. CONCLUSIONES	89
7. BIBLIOGRAFÍA	93
8. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	111



JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El éxito del tratamiento endodóntico depende del control de los microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares infectados¹. Las bacterias son los agentes etiológicos principales de la inflamación pulpar y la periodontitis apical^{2,3}. En ocasiones, el único microorganismo relacionado con infecciones post-tratamiento en endodoncia es *Enterococcus faecalis*⁴, dada su facilidad para adherirse a la dentina, invadir los túbulos dentinarios y formar biopelículas^{5,6}.

Una vez que las bacterias se adhieren a un sustrato y forman biopelículas, adquieren una excepcional capacidad para resistir a los agentes antimicrobianos y para sobrevivir a condiciones de crecimiento difíciles. Estas características contribuyen a la resistencia bacteriana y a la persistencia de patología después del tratamiento endodóntico⁷. Por este motivo, los estudios de laboratorio más recientes se centran en evaluar la eficacia de los irrigantes y medicamentos usados en la terapéutica endodóntica frente a biopelículas de *E. faecalis*^{8,9}.

Son numerosas las soluciones irrigadoras que se han propuesto para ser utilizadas en endodoncia. Una de las más ampliamente usadas es hipoclorito de

¹ Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small understanding the endodontic microbial flora. Aust Dent J. 2007;52:S38-51.

² Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965;20:340-9.

³ Lin LM, Di Fiore PM, Lin J, Rosenberg PA. Histological study of periradicular tissue responses to uninfected and infected devitalized pulps in dogs. J Endod. 2006;32:34-8.

⁴ Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. J Endod. 2004;30:315-20.

⁵ Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 1999;21;284:1318-22. Review.

⁶ Kishen A, Sum CP, Mathew S, Lim CT. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. J Endod. 2008;34:850-4.

⁷ Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals *ex vivo*. Int Endod J. 2005;38:735-42.

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

⁹ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrime and chlorhexidine. J Endod. 2010;36:87-90.

sodio (NaOCl) debido a su capacidad para disolver el tejido pulpar, tanto vital como necrótico¹⁰ y su potente acción antimicrobiana¹¹. Sin embargo, es altamente irritante para los tejidos periapicales, especialmente, a altas concentraciones¹² y no posee actividad antimicrobiana residual¹³. Otra solución irrigadora como clorhexidina (CLX) es menos eficaz que NaOCl en la erradicación de biopelículas de *E. faecalis*¹⁴, sin embargo, es capaz de inhibir la adhesión de ciertas bacterias a la dentina¹⁵, posee sustantividad^{16,17} y poca o nula toxicidad¹⁸. Otro agente de irrigación utilizado es Cetrimida (CTR). Un surfactante catiónico que reduce la tensión superficial de los líquidos¹⁹, facilita la penetración de las soluciones antimicrobianas en los túbulos dentinarios²⁰, posee actividad antimicrobiana y residual²¹ y probada sustantividad en dentina²². Sin embargo, todas las soluciones mencionadas no tienen capacidad para disolver la materia inorgánica y eliminar,

¹⁰ Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira 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.

¹¹ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389-98. Review.

¹² Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: *in vivo* study. J Endod. 2004;30:84-7.

¹³ Mohammadi Z, Abbott PV. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: a review. Aust Endod J. 2009;35:131-9.

¹⁴ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35:711-4.

¹⁵ Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. Aust Dent J. 2007; 52:S64-82. Review.

¹⁶ Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentine. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004; 98:488-92.

¹⁷ 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.

¹⁸ Jeansonne 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.

¹⁹ Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia EA. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2007;33:852-5.

²⁰ Giardino L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra MI. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. J Endod. 2006;32:1091-3.

²¹ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrimide and chlorhexidine. J Endod. 2010;36:87-90.

²² 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.

por tanto, la capa de barrrillo dentinario²³. Por este motivo, es necesario utilizar soluciones irrigadoras quelantes, como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), el ácido cítrico (AC) o el ácido fosfórico (AF) que permiten conseguir su remoción. No obstante, estos agentes no han mostrado eficacia para erradicar biopelículas de *E. faecalis*²⁴. En este sentido, el ácido maleico (AM) se ha propuesto como una alternativa al EDTA en la irrigación de conductos radiculares, demostrándose que el AM al 7% es significativamente menos tóxico²⁵, más biocompatible²⁶, posee mayor capacidad para eliminar el barrrillo dentinario en el tercio apical del conducto radicular²⁷ y mayor capacidad para desmineralizar la dentina radicular²⁸. Además, se ha puesto de manifiesto su actividad antimicrobiana frente a biopelículas de *E. faecalis*²⁹. No obstante, la eficacia de AM solo o combinado con CLX o CTR frente a biopelículas de *E. faecalis* aún no se ha investigado.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente y la escasa literatura existente sobre estudios *ex vivo* que comparen la actividad antimicrobiana residual de soluciones irrigadoras utilizadas en el tratamiento de conductos radiculares, los objetivos del presente trabajo de Tesis Doctoral son:

²³ Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. J Endod. 2006;32:993-7.

²⁴ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35:711-4.

²⁵ Ballal NV, Kundabala M, Bhat S, Rao N, Rao BS. A comparative in vitro evaluation of cytotoxic effects of EDTA and maleic acid: root canal irrigants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108:633-8.

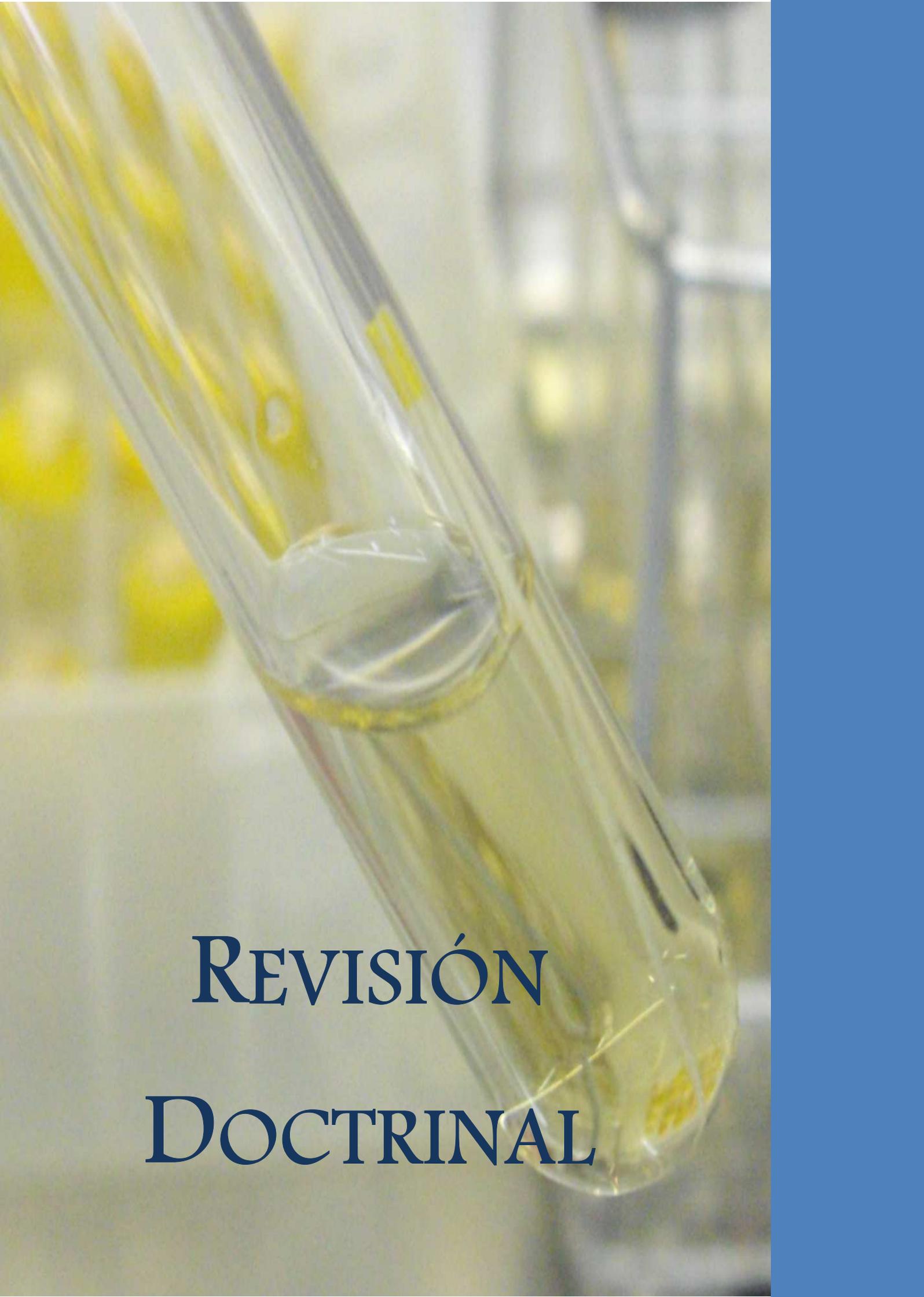
²⁶ Ballal NV, Rao BN, Mala K, Bhat KS, Rao BS. Assessment of genotoxic effect of maleic acid and EDTA: a comparative in vitro experimental study. Clin Oral Investig. 2013;17: 1319-27.

²⁷ Ballal NV, Kandian S, Mala K, Bhat KS, Acharya S. Comparison of the efficacy of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid in smear layer removal from instrumented human root canal: a scanning electron microscopic study. J Endod. 2009;35:1573-6.

²⁸ Ballal NV, Mala K, Bhat KS. Evaluation of decalcifying effect of maleic acid and EDTA on root canal dentin using energy dispersive spectrometer. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;112:e78-84.

²⁹ Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Baca P. Antimicrobial activity of maleic acid and combinations of cetrimide with chelating agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2010;36:1673-5.

1. Evaluar la eficacia de distintas soluciones de irrigación final, en régimen de irrigación convencional y alternado, en la desinfección de conductos radiculares infectados con *E. faecalis*.
2. Comparar la eficacia de soluciones de ácido maleico al 7%, solo o combinado con clorhexidina al 2% y/o cetrimida al 0,2%, en un régimen de irrigación convencional.
3. Determinar la efectividad de un régimen de irrigación alternado, usando soluciones de hipoclorito sódico al 2,5% y ácido maleico al 7%, solo o combinado con cetrimida al 0,2%, durante la preparación de conductos radiculares infectados con *E. faecalis*.



**REVISIÓN
DOCTRINAL**

2.1. *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

Enterococcus faecalis es un coco Gram positivo que puede presentarse solo, en parejas o en cadenas cortas. Se caracteriza por ser anaerobio facultativo, lo que significa que posee la capacidad de crecer en presencia o en ausencia de oxígeno³⁰. Esto es posible gracias a que, aunque carece de catalasa, posee superóxido dismutasa y peroxidasa que eliminan, respectivamente, el O_2^- y el H_2O_2 que se generan en condiciones de aerobiosis³¹. Además, es capaz de metabolizar una gran cantidad de sustratos incluyendo carbohidratos, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina, agmatina, y α -ceto ácidos³².

En general, los enterococos son organismos comensales bien adaptados a la supervivencia en el tracto intestinal, vaginal y en la cavidad oral; aunque en ocasiones, son causa frecuente de una amplia variedad de infecciones en los seres humanos³³, produciendo infecciones en tracto urinario, torrente sanguíneo, endocardio, abdomen, tracto biliar, heridas por quemadura y catéteres intravasculares. Y con menor frecuencia en pulmón³⁴, tejidos blandos³⁵, senos paranasales³⁶, oídos³⁷ y ojos³⁸.

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

³¹ Piard JC, Desmazeaud M. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. I. Oxygen metabolites and catabolism end-products. Lait. 1992; 71:525-41.

³² 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. Review.

³³ Murray BE. The life and times of the Enterococcus. Clin.Microbiol. Rev. 1990;3:46-65. Review.

³⁴ Bonten MJ, van Tiel FH, van der Geest S, Stobberingh EE, Gaillard CA. *Enterococcus faecalis* pneumonia complicating topical antimicrobial prophylaxis. N. Engl. J. Med. 1993; 21: 328:209-210.

³⁵ Horvitz RA, Von Graevenitz A. A clinical study of the role of enterococci as sole agents of wound and tissue infection. Yale J. Biol. Med. 1977;50:391-5.

³⁶ Doyle PW, Woodham JD. Evaluation of the microbiology of chronic ethmoid sinusitis. J. Clin. Microbiol. 1991;29:2396-400.

³⁷ Rantz LA, Kirby W. Enterococcal infections: an evaluation of the importance of fecal streptococci and related organisms in the causation of human disease. Arch. Intern. Med. 1943;71:516-28.

Esta capacidad para producir infecciones se debe, principalmente, a que los enterococos sobreviven en condiciones ambientales muy duras, de modo que pueden soportar niveles de pH de hasta 9,6; así como, elevadas concentraciones de cloruro sódico (NaCl)³⁹. Pueden resistir, igualmente, a las sales biliares, detergentes, etanol, metales pesados y desecación; además de crecer en un rango de temperatura que va desde 10°C a 45°C y sobrevivir durante 30 minutos a una temperatura de 60°C⁴⁰.

En concreto, *E. faecalis* es el responsable del 80 al 90% de las infecciones por enterococos en humanos, mientras que *Enterococcus faecium* representa la mayoría del 10% restante. Otras especies de enterococos, incluyendo *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus raffinosus* y *Enterococcus solitarius*, son causas poco frecuentes de infección en humanos⁴¹.

Una de las características más importantes de *E. faecalis* es su capacidad para formar biopelículas bacterianas⁴². Las biopelículas se han definido como comunidades microbianas que están formadas por células embebidas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (SPE). Entre las funciones de esta matriz se encuentran:

³⁸ Stevens SX, Jensen HG, Jett BD, Gilmore MS. A hemolysin-encoding plasmid contributes to bacterial virulence in experimental *Enterococcus faecalis* endophthalmitis. Invest. Ophthalmol. Vis Sci. 1992;33:1650-6.

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

⁴⁰ 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. Review.

⁴¹ Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of enterococci. Clin Microbiol Rev. 1994;7:462-78. Review.

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

- A. Proporcionar estabilidad mecánica⁴³, favoreciendo y manteniendo la agregación entre microorganismos y entre éstos y su medio ambiente⁴⁴.
- B. Favorecer el acúmulo de nutrientes bacterianos en el interior de la biopelícula, ya que la matriz de SPE actúa como una esponja capaz de atrapar y concentrar moléculas orgánicas e iones del medio acuoso⁴⁵. Además, la propia matriz puede ser un reservorio de nutrientes⁴⁶.
- C. Actuar como protector, ya que los exopolisacáridos otorgan a la bacteria una protección frente a la desecación debido a la capacidad de estos polímeros de retener agua⁴⁷. También protege a las exoenzimas, aquellas producidas por la bacteria y que no se encuentran en contacto directo con la membrana celular, cuya función es hidrolizar las moléculas orgánicas de alto peso molecular⁴⁸.

Esta capacidad de *E. faecalis* para formar biopelículas le permite adaptarse, rápidamente, a condiciones cambiantes de crecimiento y sobrevivir en presencia de altas concentraciones de agentes antimicrobianos⁴⁹. La protección que ofrece el crecimiento en biopelícula frente a agentes antimicrobianos es una de sus ventajas más importantes, la cual, aunque no totalmente conocida, se produce por cuatro mecanismos:

⁴³ Thomas VC, Thurlow LR, Boyle D, Hancock LE. Regulation of autolysis-dependent extracellular DNA release by *Enterococcus faecalis* extracellular proteases influences biofilm development. J Bacteriol. 2008;190:5690-8.

⁴⁴ Decho, A. Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. Continental Shelf Research 2000;20:1257-73.

⁴⁵ Guibaud G, Tixier N, Bouju A, Baudu M. Relation between extracellular polymers' composition and its ability to complex Cd, Cu and Pb. Chemosphere. 2003;52:1701-10.

⁴⁶ Liu H, Fang HH. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. J. Biotechnol 2002;95:249-56.

⁴⁷ Potts M. Desiccation tolerance of prokaryotes. Microbiol Rev. 1994;58:755-805. Review.

⁴⁸ Hoppe HG. Microbial extracellular enzyme activity: a new key parameter in aquatic ecology. En: Microbial Enzymes in Aquatics Environments. Springer. Berlin;1991:60-83.

⁴⁹ Persoon IF, Hoogenkamp MA, Bury A, Wesselink PR, Hartog AF, Wever R, Crielaard W. Effect of vanadium chloroperoxidase on *Enterococcus faecalis* biofilms. J Endod. 2012;38:72-4.

1. Estado fisiológico de los microorganismos de la biopelícula. El agotamiento de los nutrientes puede forzar a las bacterias a una fase de crecimiento latente o estacionario que las hace más resistentes a los antimicrobianos que actúan en la fase activa⁵⁰. Una vez que se diluye o se elimina el agente activo, las bacterias pueden reactivarse.
2. Propiedades de barrera⁵¹. La matriz de SPE actúa como una barrera física y química, evitando la penetración de agentes externos indeseables, cambios de pH, etc., manteniendo un ambiente en el interior adecuado para la supervivencia. Además, determinadas enzimas extracelulares, tales como β -Lactamasa, pueden quedar atrapadas concentrándose en la matriz donde ejercen su actividad, inactivando así antibióticos β -Lactámicos⁵².
3. Heterogeneidad metabólica. Los estudios han demostrado que las células en la superficie de la biopelícula pueden agotar completamente el oxígeno, dejando nichos anaeróbicos más profundos⁵³. Algunos antibióticos, tales como aminoglucósidos, son más eficaces contra las bacterias que crecen en condiciones aeróbicas que frente al mismo microorganismo que lo hace en condiciones anaeróbicas. Por lo tanto, no todas las células dentro de la biopelícula se verán afectadas de la misma manera⁵⁴.

⁵⁰ Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. J Endod. 2005;31:380–6.

⁵¹ Goodman SD, Obergfell KP, Jurcisek JA, Novotny LA, Downey JS, *et al.* Biofilms can be dispersed by focusing the immune system on a common family of bacterial nucleoid-associated proteins. Mucosal Immunol 2011;4:625–37.

⁵² Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS. Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44:1818–24.

⁵³ de Beer D, Stoodley P, Roe F, Lewandoski Z. Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. Biotechnol Bioeng 1994;43:1131–8.

⁵⁴ Tresse O, Jouenne T, Junter GA. The role of oxygen limitation in the resistance of agar-entrapped, sessile-like *Escherichia coli* to aminoglycoside and beta-lactam antibiotics. J Antimicrob Chemother. 1995;36:521–6.

4. Existencia de una sub-población de microorganismos conocida como persistentes o *persisters*⁵⁵. Estos microorganismos constituyen un pequeño porcentaje de la población original y se cree que, bajo ciertas condiciones, tienen la capacidad de adoptar un estado fenotípico altamente resistente a la destrucción por agentes antimicrobianos.

Todo esto, contribuye a que las bacterias que crecen en forma de biopelículas sean hasta 1.000 veces más resistentes a la fagocitosis, anticuerpos y agentes antimicrobianos que su forma planctónica⁵⁶.

***E. FAECALIS* EN LOS PROCESOS ENDODÓNTICOS**

Es un patógeno oportunista, ampliamente estudiado por su resistencia a los procedimientos y medicamentos utilizados en endodoncia. Se encuentra implicado tanto en las infecciones primarias como en las infecciones persistentes.

Las infecciones endodónticas primarias o de dientes no tratados endodónticamente con necrosis pulpar, se caracterizan por presentar una microbiota mixta o polimicrobiana formada, fundamentalmente, por microorganismos Gram positivos y Gram negativos, con predominio de bacterias anaerobias. Pueden encontrarse más de tres especies distintas de microorganismos dentro de un conducto radicular⁵⁷. Se ha demostrado que *E. faecalis* estaba presente en un 40% de los dientes con infecciones endodónticas primarias⁵⁸.

⁵⁵ Spoering AL, Lewis K. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. J Bacteriol. 2001;183:6746–51.

⁵⁶ 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.

⁵⁷ Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. Endod Topics. 2003;6: 3-28.

⁵⁸ Baumgartner JC, Falkler WA Jr. Bacteria in the apical 5mm of infected root canals. J Endod. 1991;17: 380-3.

Las infecciones endodónticas persistentes se producen por la capacidad de ciertos microorganismos de sobrevivir dentro de los conductos radiculares obturados, perpetuando la inflamación periapical. En este caso, la microbiota se caracteriza por la presencia varias especies, con predominio de microorganismos Gram positivos, y de especies anaerobias facultativas⁵⁹. Estudios señalan a *E. faecalis* como el microorganismo más prevalente en este tipo de infecciones⁶⁰, con una frecuencia que oscila entre el 24% y el 77%⁶¹. Esto hace que *E. faecalis* sea el responsable de muchos fracasos endodónticos a causa de su resistencia inherente a los antibióticos y la capacidad de adaptación a los duros cambios ambientales⁶². Puede adherirse a las células del hospedador y expresar proteínas que compiten con otras células alterando la respuesta del mismo⁶³ y provocando inhibición linfocitaria, lo cual contribuye, potencialmente, al fracaso del tratamiento de conductos⁶⁴. Además, puede adherirse a la dentina de las paredes del conducto radicular⁶⁵ acumulándose y formando biopelículas⁶⁶.

Dada la alta prevalencia de *E. faecalis* en infecciones endodónticas, es esencial erradicar este grupo de bacterias para asegurar el éxito del tratamiento endodóntico.

⁵⁹ Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endod Topics*. 2003;6: 3-28.

⁶⁰ Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistente after treatment procedures. *J Endod*. 2008;34:1291-1301.

⁶¹ Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 2004;30:315-20.

⁶² Rôças IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF Jr. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J Endod* 2004;30:504-8.

⁶³ Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*. 2004;30:315-20.

⁶⁴ Lee W, Lim S, Son HH, Bae KS. Sonicated extract of *Enterococcus faecalis* induces irreversible cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. *J Endod*. 2004;30:209-12.

⁶⁵ Hancock HH 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91:579-86.

⁶⁶ Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*. 2002;28:689-93.

2.2. SOLUCIONES IRRIGADORAS EN ENDODONCIA

El resultado favorable del tratamiento endodóntico se define como la desaparición y/o reducción de una lesión radiográfica y ausencia de síntomas clínicos en el diente afectado después de un periodo mínimo de observación de un año⁶⁷. Está, claramente, demostrado el papel esencial de los microorganismos en el desarrollo y mantenimiento de la patología pulpar y periapical en estudios realizados en animales y humanos⁶⁸. Por lo tanto, uno de los objetivos más importante del tratamiento endodóntico es la eliminación de los microorganismos y sus toxinas del sistema de conductos radiculares⁶⁹.

La preparación químico-mecánica es una tarea difícil, debido a la complejidad anatómica de los conductos radiculares⁷⁰. Además, a pesar de que existen técnicas de instrumentación mecánica que han mejorado, considerablemente, a lo largo de los años, ninguna consigue desinfectar completamente el conducto radicular⁷¹, lo que tiene como consecuencia que la preparación químico-mecánica se base, en gran medida, en la utilización de soluciones irrigadoras. Los objetivos de la irrigación del sistema de conductos son⁷²:

1. Eliminar los restos orgánicos e inorgánicos, incluyendo la capa de barrillo dentinario que se produce en la superficie de la dentina radicular, por la

⁶⁷ Orstavik D. Time-course and risk analyses of the development and healing of chronic apical periodontitis in man. *Int Endod J.* 1996;29:150-5.

⁶⁸ Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992; 18: 427-30.

⁶⁹ Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Topics.* 2005;10:77-102.

⁷⁰ Young GR, Parashos P, Messer HH. The principles of techniques for cleaning root canals. *Aust Dent J.* 2007;52:S52-63. Review.

⁷¹ Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after 'one-visit' endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99:231-52.

⁷² Weine FS. Tratamiento endodoncico. 5ta. Edición, Harcourt Brace. Madrid. 1997.

acción de los instrumentos y que se compacta en el interior de los túbulos dentinarios.

2. Arrastre mecánico, retirando restos de contenido radicular para evitar el taponamiento del conducto radicular.
3. Acción antiséptica o desinfectante.
4. Lubricante, facilitando la instrumentación del conducto radicular.
5. Acción blanqueante, debido a la presencia de oxígeno nascente.

Idealmente, las soluciones irrigadoras deberían cumplir todos estos requisitos e, incluso, algunos más como son poseer mínima toxicidad tisular y baja tensión superficial⁷³. Pero también, es muy importante que la solución irrigadora tenga actividad antimicrobiana residual⁷⁴ que permita que el efecto antimicrobiano se mantenga a largo plazo, ya que algunas bacterias pueden sobrevivir y conducir a la reinfección del conducto radicular y por tanto, al fracaso endodóntico. Por esta razón, la utilización de una solución irrigadora que ejerza una actividad antimicrobiana no sólo en el momento de su aplicación, sino también, durante un periodo de tiempo bastante amplio después de su uso, permite eliminar las bacterias que persisten en el conducto radicular después del tratamiento endodóntico y prevenir la recolonización bacteriana en dientes con periodontitis apical persistente⁷⁵.

NaOCl y CLX son las soluciones irrigadoras con acción antimicrobiana más usadas en endodoncia; sin embargo, éstas no eliminan el componente inorgánico del barrillo dentinario formado durante la instrumentación. Por este motivo,

⁷³ Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32:389–98. Review.

⁷⁴ Siqueira JF Jr, Rôças IN, Santos SR, Lima KC, Magalhaes FA, de Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod.* 2002;28:181-4.

⁷⁵ Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistente after treatment procedures. *J Endod* 2008;34:1291–1301. Review.

deben utilizarse junto a soluciones quelantes como EDTA o ácidas como AC y AF, entre otros.

HIPOCLORITO DE SODIO

Es la solución irrigadora más empleada en endodoncia⁷⁶ y pertenece al grupo de los compuestos halogenados.

Hipoclorito de potasio fue la primera solución acuosa de cloro producida químicamente y fue inventada en Francia por Berthollet (1748-1822). A partir de finales del siglo XVIII, esta solución fue elaborada industrialmente por Percy en Javel, cerca de París, de ahí el nombre de "Eau de Javel" (Agua de Javel). Las soluciones de hipoclorito, se comenzaron a utilizar como agentes blanqueadores y, posteriormente, NaOCl fue recomendado por Labarraque (1777-1850) para prevenir la fiebre puerperal y otras enfermedades infecciosas. A continuación, y basándose en los estudios de laboratorio controlados por Koch y Pasteur, NaOCl fue ganando una amplia aceptación como desinfectante a finales del siglo XIX. En la Primera Guerra Mundial, el químico Henry Drysdale Dakin y el cirujano Alexis Carrel extendieron el uso de una solución tamponada de NaOCl al 0,5% (neutralizada con ácido bórico) para la irrigación de las heridas infectadas⁷⁷.

El mecanismo de acción de NaOCl causa alteraciones en la biosíntesis del metabolismo celular y destrucción fosfolipídica, formación de cloraminas que interfieren en el metabolismo celular, acción oxidativa con inactivación enzimática irreversible en las bacterias y degradación de lípidos y de ácidos grasos⁷⁸. Y entre sus características principales se encuentra su capacidad para

⁷⁶ 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;36:75-85. Review.

⁷⁷ Dakin HD. On the use of certain antiseptic substances in treatment of infected wounds. *Br Med J.* 1915;28:318-20.

⁷⁸ Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz. Dent. J.* 2002;13: 113-7.

disolver restos de tejido pulpar, siendo efectivo tanto en tejido vital como necrosado; así como, su capacidad antimicrobiana, eliminando un amplio espectro de microorganismos patógenos tales como bacterias, hongos, esporas y virus, incluyendo el virus de la inmunodeficiencia humana⁷⁹. Además, NaOCl ha mostrado eficacia frente a microorganismos tanto en suspensión como en biopelículas^{80,81} (*Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus intermedius*, *Fusobacterium nucleatum* o *E. faecalis*).

Otras características de NaOCl son su bajo coste, su fácil disponibilidad y que posee una buena vida útil⁸². Todo ello, lo convierten en el principal irrigante en endodoncia desde 1920⁸³; aunque, entre sus desventajas destacan su toxicidad, en caso de extrusión al periápice^{84,85}, y el hecho de que no elimina la capa de barrillo dentinario^{86,87}.

Comercialmente, NaOCl está disponible como solución acuosa a concentraciones que oscilan entre 1% y 15% y un pH alcalino con valores de alrededor de 11-12⁸⁸. Sin embargo, las concentraciones de NaOCl recomendadas en endodoncia varían

⁷⁹ Hidalgo E, Bartolome R, Dominguez C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. *Chem Biol Interact.* 2002;139:265-82.

⁸⁰ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod.* 2009;35:711-4.

⁸¹ Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An *in vitro* evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J.* 2001;34:300-7.

⁸² Fraix S, Ng YL, Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. *Int Endod J.* 2001;34:206-15.

⁸³ Crane AB. A predictable root canal technique. Philadelphia: Lea & Febiger, 1920.

⁸⁴ Sirven F, Martín N, Tapia A, Barbero E. Importancia de la irrigación en el éxito del tratamiento de conductos radiculares necróticos. Parte 1. *Endodoncia* 2008;26,3:172-85.

⁸⁵ Gerhardt CR, Eppendorf K, Kozłowski A, Brandt M. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. *Int Endod J.* 2004;37:272-80.

⁸⁶ Garberoglio R, Becce C. Smear layer removal by root canal irrigants. A comparative scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78:359-67.

⁸⁷ Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod.* 1992;18:605-12.

⁸⁸ Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:597-610. Review.

desde el 0,5% hasta el 6%, ya que a estas concentraciones tiene capacidad de eliminar bacterias Gram positivas y Gram negativas, virus, hongos y esporas⁸⁹ y, aunque el aumento de la concentración incrementa sus propiedades solventes y antibacterianas, también aumenta su toxicidad⁹⁰.

CLORHEXIDINA

En su estructura tiene dos anillos simétricos 4-clorofenol y dos grupos bisguanida conectados por una cadena central de hexametileno⁹¹. Fue desarrollada en 1940 en los laboratorios de investigación de Imperial Chemical Industries Ltd. (Macclesfield, Inglaterra). Inicialmente, se sintetizaron una serie de polibisguanidas para obtener, sin éxito, sustancias con actividad antiviral. Sólo, cuando fueron descubiertas sus características como agente antibacteriano, volvió a ser investigada y comercializada.

Se caracteriza⁹² por ser una molécula hidrófoba y lipófila que se disocia formando soluciones con iones de carga positiva que interactúan con fosfolípidos y lipopolisacáridos de la membrana bacteriana, entrando en la célula a través de algún mecanismo de transporte activo o pasivo. Su eficacia se debe a la interacción entre la molécula de CLX (carga positiva) y los grupos fosfato de las paredes bacterianas (carga negativa), lo que altera el equilibrio osmótico de los microorganismos aumentando la permeabilidad de su pared celular y permitiendo que la molécula de CLX pueda penetrar en la célula bacteriana.

⁸⁹ Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Hababeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2004;37:438-46.

⁹⁰ Jiménez-Rubio A, Segura JJ, Llamas R, Jiménez-Planas A, Guerrero JM, Calvo JR. *In vitro* study of the effect of sodium hypochlorite and glutaraldehyde on substrate adherence capacity of macrophages. J Endod. 1997;23:562-4.

⁹¹ Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine: An adjunct to periodontal therapy. J Periodontol 1986; 57:370-6. Review.

⁹² Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. Aust Dent J. 2007; 52:S64-82. Review.

Además, CLX es menos tóxica para el tejido periapical que NaOCl⁹³ y permanece activa con un pH entre 5-8. Es efectiva, principalmente, frente a bacterias Gram positivas y en menor medida frente a Gram negativas⁹⁴ pero, sin embargo, no es viricida ni esporicida, ni activa frente a bacterias ácido alcohol resistentes. Su actividad frente a los hongos es relativa (es eficaz sobre todo frente a *C. albicans*).

Por otra parte, su estructura catiónica le ofrece una propiedad única llamada **sustantividad**, es decir, los iones de CLX cargados positivamente se unen a determinadas estructuras orales, liberándose lentamente en forma activa y manteniendo niveles terapéuticos. Así, puede prevenirse la colonización microbiana en la superficie de la dentina durante un tiempo más prolongado que el tiempo de efectividad del medicamento⁹⁵.

Estas propiedades hacen que sea uno de los irrigantes propuestos en endodoncia como alternativa o complemento en la irrigación final del conducto radicular. Sin embargo, no puede ser recomendada como irrigante principal debido a que:

1. Es incapaz de disolver restos de tejido orgánico e inorgánico y se inactiva en presencia de materia orgánica⁹⁶.
2. Es menos eficaz en bacterias Gram negativas que en las Gram positivas⁹⁷.

En Odontología, CLX es muy utilizada para el control de la placa bacteriana, recomendándose soluciones acuosas al 0,05%, 0,2% y 0,12%. En endodoncia, la

⁹³ Jeansonne 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.

⁹⁴ Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. Scand J Dent Res. 1977;85:255-65.

⁹⁵ Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. Aust Dent J. 2007; 52:S64-82. Review.

⁹⁶ Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. J Endod. 2004;30:785-7.

⁹⁷ Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. Scand J Dent Res. 1977;85:255-65.

concentración más recomendada como solución es al 2%⁹⁸ e incluso, se puede usar como gel⁹⁹.

CETRIMIDA

Es un surfactante catiónico derivado del amonio cuaternario cuya actividad bactericida está demostrada frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas¹⁰⁰.

CTR es un agente activo superficial, lo que significa que es una molécula con un segmento liposoluble (soluble en aceite) y otro hidrosoluble (soluble en agua) capaz de penetrar en la interfase entre la capa acuosa y lipídica. Además, es catiónica, por lo que su carga iónica es positiva. Estas dos características hacen que la molécula de CRT pueda absorberse sobre sustratos cargados negativamente, produciendo una capa hidrófoba que aumenta el ángulo de contacto con el agua reduciendo, de este modo, la tensión superficial de los líquidos. Por otra parte, los surfactantes catiónicos del tipo amonio cuaternario tienen acción antiséptica y bactericida¹⁰¹, ya que actúan sobre las membranas bacterianas reaccionando con los componentes fosfolipídicos y provocando distorsión de la membrana citoplasmática y lisis por estrés osmótico¹⁰². Además, la carga positiva de los surfactantes catiónicos genera un efecto biocida sobre los microorganismos¹⁰³, cambiando el signo de la superficie celular de negativo a

⁹⁸ Zamany A, Safavi K, Spangberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96:578-81.

⁹⁹ Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009; 42:288-302.

¹⁰⁰ Vieira DB, Carmona-Ribeiro AM. Cationic lipids and surfactants as antifungal agents: mode of action. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58:760-7.

¹⁰¹ Merianos JJ. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. En: Block SS, ed. *Disinfection, Sterilization, and Preservation.* Philadelphia: Lea & Febiger; 199;225-62.

¹⁰² Russell AD, Chopra I, ed. *Understanding antibacterial action and resistance.* 2th Ed. New York; Ellis Horwood;1996.

¹⁰³ Kügler R, Bouloussa O, Rondelez F. Evidence of a charge-density threshold for optimum efficiency of biocidal cationic surfaces. *Microbiology* 2005;151:1341-8.

positivo, provocando su muerte¹⁰⁴. Cuando el crecimiento bacteriano se produce en forma de biopelícula, el mecanismo de acción se basa en el cambio electrostático, el cual desestabiliza las fuerzas cohesivas que mantienen la integridad de la estructura de la biopelícula, favoreciendo la eliminación de la misma¹⁰⁵.

En endodoncia, CTR se emplea porque tiene la ventaja de ser poco irritante y de reducir la tensión superficial de las soluciones irrigadoras empleadas, favoreciendo su entrada en lugares de difícil acceso como son los túbulos dentinarios¹⁰⁶.

La concentración recomendada de CTR es de 0,2% y cuando se utiliza solo o asociado con CLX¹⁰⁷, EDTA, AC o AM¹⁰⁸, ejerce actividad bactericida eficaz contra biopelículas de *E. faecalis*.

Además, CTR se caracteriza por ejercer actividad antimicrobiana residual¹⁰⁹. Su sustantividad, cuando se utiliza sólo, es menor que al combinarlo con CLX y su eficacia no se ve afectada por la presencia del colágeno de la dentina¹¹⁰. Así, una solución combinada de CTR al 0,2% y CLX al 2% ha mostrado mayor efectividad que el uso de agentes quelantes (EDTA o AM) seguido de una solución de NaOCl al 5,25% en un régimen de irrigación final¹¹¹. Igualmente, soluciones combinadas

¹⁰⁴ Campanhã MT, Mamizuka EM, Carmona-Ribeiro AM. Interactions between cationic liposomes and bacteria: the physical-chemistry of the bactericidal action. *J Lipid Res.* 1999;40:1495–500.

¹⁰⁵ Cloete TE, Jacobs L, Brözel VS. The chemical control of biofouling in industrial water systems. *Biodegradation.* 1998;9:23-37. Review.

¹⁰⁶ 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.

¹⁰⁷ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrимide and chlorhexidine. *J Endod.* 2010;36:87-90.

¹⁰⁸ Ferrer-Luque CM, Arias Moliz MT, González-Rodríguez MP, Baca P. Antimicrobial activity of maleic acid and combinations of cetrимide with chelating agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod.* 2010;36:1673-5.

¹⁰⁹ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrимide and chlorhexidine. *J Endod.* 2010;36:87–90.

¹¹⁰ Baca P, Junco P, Arias-Moliz MT, Castillo F, Rodríguez-Archilla A, Ferrer-Luque CM. Antimicrobial substantivity over time of chlorhexidine and cetrимide. *J Endod.* 2012;38:927-30.

¹¹¹ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *J Endod.* 2011;37:1121-3.

de agentes quelantes (EDTA, AM o ácido láctico) con CTR al 0,2% han mostrado mayor actividad residual comparados con su utilización como único agente de irrigación final¹¹².

ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO

Es el agente quelante más comúnmente utilizado en endodoncia y fue introducido como solución irrigadora en 1957 por Nygaard-Östby¹¹³.

Su uso permite reblandecer la dentina y ensanchar los conductos radiculares favoreciendo el tratamiento endodóntico de conductos estrechos o calcificados, gracias a su afinidad por los iones calcio de la dentina¹¹⁴. Además, permite eliminar la capa de barrillo dentinario que se forma durante la instrumentación^{115,116}, aumentando la permeabilidad de la dentina radicular¹¹⁷ y, por lo tanto, favoreciendo que otras soluciones irrigadoras accedan al interior de los túbulos dentinarios¹¹⁸. Todo ello contribuye a mejorar la desinfección del conducto radicular potenciando la adhesión de los selladores endodónticos basados en resinas^{119,120}.

¹¹² 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.

¹¹³ 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.

¹¹⁴ Nygaard-Östby B. Chelation in root canal therapy. Odontol Tidskr 1957;65:3-11.

¹¹⁵ Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. J Endod. 2006;32:993-7.

¹¹⁶ Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. J Endod. 2005;31:817-20.

¹¹⁷ Surapipongpuntr P, Duangcharee W, Kwangsamai S, Ekka A. Effect of root canal irrigants on cervical dentine permeability to hydrogen peroxide. Int Endod J. 2008;41:821-7.

¹¹⁸ 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.

¹¹⁹ 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;113:70-6.

¹²⁰ Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Orstavik D. The effects of dentine pretreatment on the adhesion of root canal sealer. Int Endod J. 2002;35:859-66.

En términos de propiedades antimicrobianas se ha comprobado que la solución de EDTA muestra una actividad antimicrobiana mínima frente a cultivos de *E. faecalis* en forma planctónica^{121,122} o en biopelícula¹²³. Estudios realizados demostraron que EDTA al 17% fue incapaz de erradicar biopelículas de *E. faecalis* en cualquier dilución o tiempo testado¹²⁴. Además, se ha descrito que posee actividad antifúngica sobre *C. albicans*^{125,126}, que se atribuye a su capacidad de quelación de los iones de calcio, esenciales en su metabolismo.

Las concentraciones empleadas oscilan entre el 15% y el 17%, con un pH de 5-7.

ÁCIDO CÍTRICO

Se encuentra de forma natural en el organismo, lo que le otorga la ventaja de ser biológicamente más aceptable que otros ácidos¹²⁷. Es un ácido orgánico tricarboxílico clasificado como quelante, ya que su bajo pH reacciona con los iones metálicos de los cristales de hidroxiapatita formando un quelato metálico soluble no iónico. Esta característica le permite reblandecer la dentina incrementando así el diámetro de los túbulos dentinarios expuestos y

¹²¹ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Rodríguez E, Liébana-Ureña J, Espigares-García M. Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;106:e84-9.

¹²² Torabinejad M, Shabahang S, Apicó RM, Ketteering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an *in vitro* investigation. J Endod. 2003;29:400-3.

¹²³ Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. J Endod. 2005;31:30-6.

¹²⁴ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35:711-4.

¹²⁵ Ates M, Akdeniz BG, Sen BH. The effect of calcium chelating or binding agents on *Candida albicans*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;100:626-30.

¹²⁶ Sen BH, Akdeniz BG, Denizci AA. The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on *Candida albicans*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2000;90:651-5.

¹²⁷ Georgopoulou M, Kontakiotis E, Nakou M. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid and sodium hypochlorite on the anaerobic flora of the infected root canal. Int Endod J. 1994;27:139-43.

favoreciendo el tratamiento de conductos estrechos o calcificados¹²⁸. Además, tiene la capacidad de eliminar la capa de barrillo dentinario¹²⁹. Igualmente, se ha demostrado que posee actividad antimicrobiana frente a bacterias¹³⁰ pero es ineficaz frente a biopelículas de *E. faecalis*¹³¹.

Puede emplearse a concentraciones del 10%, 25% y 50%¹³² pero se ha demostrado que a un pH bajo (1-2), concentraciones entre el 5 y el 10%, son igualmente eficaces¹³³.

ÁCIDO FOSFÓRICO

Fue introducido por primera vez en Odontología por Buonocore¹³⁴ en 1955 para el pretratamiento del esmalte y la dentina con el objetivo de favorecer la adhesión de las resinas acrílicas a la estructura dental, empleándose en operatoria dental a una concentración del 37%. En endodoncia se han investigado diferentes concentraciones (5%, 10% y 37%), demostrándose que elimina la capa de barrillo dentinario originada durante la instrumentación de los conductos radiculares^{135,136}, lo que favorece la adhesión de los selladores endodónticos

¹²⁸ Dogan H, Qalt S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. J Endod. 2001;27:578-80.

¹²⁹ Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. J Endod. 2006;32:993-7.

¹³⁰ Siqueira JF Jr, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. J Endod. 1998;24:414-6.

¹³¹ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35:711-4.

¹³² Ferrer-Luque CM, González López S, Navajas Rodríguez de Mondelo JM. Mechanical instrumentation of the root canals. A study using SEM and computerized image analysis. Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol. 1996;39:111-7.

¹³³ Haznedaroglu F. Efficacy of various concentrations of citric acid at different pH values for smear layer removal. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;96:340-4.

¹³⁴ Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res 1955;34:849-53.

¹³⁵ Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. J Endod. 2006;32:993-7.

¹³⁶ Ayad MF. Effects of rotatory instrumentation and different etchants on removal of smear layer on human dentin. J Prosthet Dent. 2001;85:67-72.

basados en resina^{137,138}. Además es efectivo en la descalcificación de la dentina del conducto radicular¹³⁹. Sin embargo, al igual que ocurre con EDTA y AC, este ácido posee actividad antimicrobiana frente a *E. faecalis*¹⁴⁰ en suspensión pero no frente a biopelículas¹⁴¹.

ÁCIDO MALEICO

Es un compuesto orgánico perteneciente al grupo de los ácidos dicarboxílicos cuyo estado de agregación es sólido en forma de cristales blancos. Se caracteriza por ser un ácido orgánico suave muy utilizado en operatoria dental como ácido acondicionador en adhesivos dentales¹⁴² por su capacidad para eliminar el barrillo dentinario¹⁴³ y por presentar buena biocompatibilidad pulpar¹⁴⁴. En endodoncia ha sido propuesto, recientemente, como agente quelante debido a su eficacia para eliminar la capa de barrillo dentinario, ya que se ha demostrado que al 7% es, significativamente, mejor que EDTA al 17% en la desmineralización de la dentina radicular¹⁴⁵ y en la eliminación de la capa de barrillo dentinario en el tercio apical del conducto radicular¹⁴⁶.

¹³⁷ 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;113:70-6.

¹³⁸ Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Orstavik D. The effects of dentine pretreatment on the adhesion of root-canal sealers. *Int Endod J.* 2002;35:859-66.

¹³⁹ Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González Rodríguez MP, Martín-Peinado FJ, González-López S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid, and 2.5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod J.* 2008;41:418-23.

¹⁴⁰ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Rodríguez E, Liébana-Ureña J, Espigares-García M. Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106:e84-9.

¹⁴¹ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod.* 2009;35:711-4.

¹⁴² Wiczowski G Jr, Yu XY, Davis EL, Joynt RB. Microleakage in various dentin bonding agent/composite resin systems. *Oper Dent.* 1992;5(suppl):62-7.

¹⁴³ Erickson RL. Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper Dent.* 1992;5(suppl):81-94. Review.

¹⁴⁴ Goracci G, Mori G, Bazzucchi M. Marginal seal and biocompatibility of a fourth-generation bonding agent. *Dent Mater.* 1995;11:343-7.

¹⁴⁵ Ballal NV, Mala K, Bhat KS. Evaluation of decalcifying effect of maleic acid and EDTA on root canal dentin using energy dispersive spectrometer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112:e78-84.

El pH de AM al 7% es, altamente, ácido (1,05), lo que facilita la desmineralización de la dentina radicular durante un tiempo prolongado. También, posee baja tensión superficial, lo que favorece su penetración en los túbulos dentinarios¹⁴⁷. Otra serie de ventajas de AM respecto a EDTA, que fomentan su utilización en endodoncia, son su demostrada actividad antimicrobiana con capacidad para erradicar biopelículas de *E. faecalis*¹⁴⁸, mayor biocompatibilidad¹⁴⁹, menor toxicidad¹⁵⁰ y que no precipita al mezclarse con CLX¹⁵¹.

La concentración recomendada en endodoncia es del 7%, ya que se ha investigado que concentraciones superiores producen daños en la dentina peritubular¹⁵².

Las propiedades principales de las soluciones irrigadoras expuestas anteriormente, se encuentran resumidas en la Tabla 2.1.

SOLUCIONES COMBINADAS

Actualmente, existen en el mercado diferentes soluciones irrigadoras que incorporan en su composición antibióticos, detergentes y ácidos. Entre ellas podemos destacar:

¹⁴⁶ Ballal NV, Kandian S, Mala K, Bhat KS, Acharya S. Comparison of the efficacy of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid in smear layer removal from instrumented human root canal: a scanning electron microscopic study. J Endod. 2009;35:1573-6.

¹⁴⁷ Ballal NV, Kundabala M, Bhat KS. A comparative evaluation of postobturation apical seal following intracanal irrigation with maleic acid and EDTA: a dye leakage under vacuum study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:e126-30.

¹⁴⁸ Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Baca P. Antimicrobial activity of maleic acid and combinations of cedrimide with chelating agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2010; 36, 1673-5.

¹⁴⁹ Ballal NV, Rao BN, Mala K, Bhat KS, Rao BS. Assessment of genotoxic effect of maleic acid and EDTA: a comparative in vitro experimental study. Clin Oral Investig. 2013;17:1319-27.

¹⁵⁰ Ballal NV, Kundabala M, Bhat S, Rao N, Rao BS. A comparative *in vitro* evaluation of cytotoxic effects of EDTA and maleic acid: root canal irrigants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108:633-8.

¹⁵¹ Ballal NV, Moorkoth S, Mala K, Bhat KS, Hussien SS, Pathak S. Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod. 2011;37:1402-5.

¹⁵² Prabhu SG, Rahim N, Bhat KS, *et al.* Comparison of removal of endodontic smear layer using sodium hypochlorite, EDTA and different concentrations of maleic acid- a SEM study. Endodontology 2003;15:20-5.

Tabla 2.1. Propiedades de las soluciones irrigadoras frecuentemente usadas en endodoncia.

Compuesto (concentraciones recomendadas)	Tipo	Actividad antimicrobiana sobre suspensión	Actividad antimicrobiana sobre biopelículas	Disolución de tejido	Eliminación del barrillo dentinario	Biocompatibilidad
NaOCl (0,5%-6%)	Compuesto halogenado	+++	+++	+++	++ sobre componentes orgánicos	Concentración dependiente
Clorhexidina (0,2%-2%)	Bisguanida catiónica	++	++	-	-	++
Cetrimida (0,2%)	Surfactante catiónico	++	++	-	-	++
EDTA (10%-17%)	Quelante	+	-	-	+++ sobre componentes inorgánicos	++
Ácido cítrico (10%-50%)	Ácido orgánico	+	-	-	+++ sobre componentes inorgánicos	++
Ácido fosfórico (5%)	Ácido inorgánico	-	-	-	+++ sobre componentes inorgánicos	No disponible
Ácido maleico (7%)	Ácido orgánico	+	+++	-	+++ sobre componentes inorgánicos	+++

-: ausente o mínima; +: baja; ++: media; +++: elevada.

Tabla modificada de Zehnder y cols.¹⁵³.

BioPure MTAD® (Dentsply, Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA) cuyo nombre se origina de las palabras en inglés *Mixture of Tetracycline Acid and Detergent*. Es una solución ácida con un pH de 2,15 y está formada por la mezcla de un isómero de tetraciclina, doxiciclina al 3%, ácido cítrico al 4,25% y Tween 80 al 0,5% (detergente que actúa como un agente tensioactivo para facilita la penetración del ácido cítrico y doxiciclina en los túbulos dentinarios del conducto radicular). Se caracteriza por tener demostrada capacidad para eliminar el barrillo dentinario formado durante la instrumentación en los conductos radiculares¹⁵⁴, actividad antimicrobiana a corto¹⁵⁵

¹⁵³ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389-98. Review.

¹⁵⁴ Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. J Endod. 2003;29:233-9.

y largo plazo^{156,157,158}; así como, menor citotoxicidad que el NaOCl al 5,25%, EDTA al 17% y peróxido de hidrógeno al 3%¹⁵⁹.

Tetraclean® (Ogna Laboratori Farmaceutici, Milán, Italia) tiene en su composición doxiciclina 50 mg/5 ml, ácido cítrico, cetrimida y polipropilenglicol. Se caracteriza por ser efectivo en la eliminación del barrillo dentinario; así como, en la eliminación de biopelículas de *E. faecalis*¹⁶⁰. Además, posee baja tensión superficial, lo que le facilita penetrar en el interior de los túbulos dentinarios¹⁶¹.

SmearClear® (SybronEndo, Orange, California, USA) es una solución de EDTA al 17% y dos surfactantes adicionales, cetrimida (catiónica) y un surfactante aniónico. La combinación de estos dos agentes con EDTA no ha mejorado su capacidad para eliminar el barrillo dentinario cuando lo comparamos con EDTA sólo¹⁶², aunque sí la capacidad para erradicar biopelículas de *E. faecalis*¹⁶³.

REDTA® (Roth International limited, Chicago, USA) consiste en EDTA al 17% (amortiguado con hidróxido de sodio) y cetrimida, el cual reduce la tensión

¹⁵⁵ Torabinejad M, Shabahang S, Aprecio RM, Kettering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an *in vitro* investigation. J Endod. 2003;29:400-3.

¹⁵⁶ Mohammadi Z, Giardino L, Mombeinipour A. Antibacterial substantivity of a new antibiotic-based endodontic irrigation solution. Aust Endod J. 2012;38:26-30.

¹⁵⁷ Kamberi B, Bajrami D, Stavileci M, Omeragig S, Dragidella F, Koçani F. The Antibacterial Efficacy of Biopure MTAD in Root Canal Contaminated with *Enterococcus faecalis*. ISRN Dent. 2012;2012:390526.

¹⁵⁸ Mohammadi Z, Shahriari S. Residual antibacterial activity of chlorhexidine and MTAD in human root dentin in vitro. J Oral Sci. 2008;50:63-7.

¹⁵⁹ Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. J Endod. 2003;29:654-7.

¹⁶⁰ Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia EA. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2007;33:852-5.

¹⁶¹ 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.

¹⁶² Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. J Endod. 2008;34:599-602.

¹⁶³ Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. J Endod. 2006;32:527-31.

superficial. Al igual que SmearClear[®] posee propiedades quelantes y antimicrobianas frente a biopelículas de *E. faecalis*¹⁶⁴.

EDTAC[®] (Roth International limited, Chicago, USA) combina EDTA al 17% con un surfactante, en este caso Cetavlon[®] (compuesto comercial de cetrimida). Estudios realizados por Goldberg y cols.¹⁶⁵, muestran que EDTAC[®] aumenta la permeabilidad dentinaria permitiendo eliminar restos orgánicos y microorganismos, facilitando la penetración de medicamentos en áreas de difícil acceso como son los túbulos dentinarios, conductos accesorios y foramen apical.

Cetrexidin[®] (GABA Vebas, San Giuliano Milanese, Milán, Italia) es una combinación de clorhexidina al 0,2% y cetrimida al 0,2% en base acuosa. Posee baja tensión superficial¹⁶⁶, demostrada actividad antibacteriana y menor toxicidad que NaOCl al 5,25%¹⁶⁷.

Chlor-Xtra[®] y **CHX-Plus[®]** (Vista Dental Products, Racine, WI) de reciente introducción en el mercado. Chlor-XTRA[®] contiene NaOCl a una concentración inferior al 6%, un agente humectante modificador de superficie y agentes alcalinos para aumentar la capacidad eléctrica de esta solución. CHX-Plus[®] incluye clorhexidina al 2% y modificadores de superficie para disminuir su viscosidad. La actividad antimicrobiana frente a biopelículas de *E. faecalis* de

¹⁶⁴ Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. J Endod. 2006;32:527-31.

¹⁶⁵ Goldberg F, Abramovich A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. J Endod. 1977;3:101-5.

¹⁶⁶ 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.

¹⁶⁷ Onçağ O, Hoşgör M, Hilmioğlu S, Zekioğlu O, Eronat C, Burhanoğlu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. Int Endod J. 2003;36:423-32.

Chlor-XTRA[®] ha resultado ser similar a la de NaOCl al 6% y, significativamente, mejor que la de CHX-Plus[®] ¹⁶⁸.

QMIX 2en1[®] (Dentsply, Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA) su fórmula libre de antibióticos se compone de EDTA al 17%, clorhexidina al 2% y cetrimida como detergente tensioactivo. Posee un pH neutro y se ha demostrado que QMix 2en1[®] es igual de eficaz que EDTA al 17% en la eliminación de la capa de barrillo dentinario de la pared del conducto radicular después del uso de NaOCl al 5,25%¹⁶⁹. Su eficacia antimicrobiana es comparable a NaOCl al 6%¹⁷⁰ en la eliminación de biopelículas de *E. faecalis*¹⁷¹.

2.3. INTERACCIONES ENTRE LAS SOLUCIONES IRRIGADORAS

Ninguna solución irrigadora es capaz de eliminar la capa de barrillo dentinario y, simultáneamente, disolver el tejido orgánico¹⁷², por lo que es necesario utilizar distintas soluciones pero evitando que se produzcan interacciones entre ellas.

INTERACCIÓN ENTRE HIPOCLORITO DE SODIO Y AGENTES QUELANTES

Cuando NaOCl se mezcla con agentes quelantes se produce una reducción del cloro libre disponible, lo que se traduce en una disminución de la capacidad de NaOCl para eliminar el tejido necrótico y las bacterias¹⁷³. Además, la adición de

¹⁶⁸ Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2009;35:95-7.

¹⁶⁹ Dai L, Khechen K, Khan S, Gillen B, Loushine BA, et al. The effect of QMix, an experimental antibacterial root canal irrigant, on removal of canal wall smear layer and debris. J Endod. 2011;37:80-4.

¹⁷⁰ Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. J Endod. 2011;37:1380-5.

¹⁷¹ Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. Int Endod J. 2012; 45:363-71.

¹⁷² Baumgartner JC, Brown CM, Mader CL, Peters DD, Shulman JD. A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite, and citric acid. J Endod. 1984;10:525-31.

¹⁷³ Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Doğramacı EJ, et al. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. Int Endod J. 2011;44:792-9.

quelantes a NaOCl reduce su pH en una relación y manera dependiente del tiempo¹⁷⁴.

Concretamente, cuando NaOCl se mezcla con AC, la cantidad de cloro libre disponible se reduce a 0 en menos de 1 minuto, mientras que en el caso de EDTA requiere entre 1 y 60 minutos para la misma reducción¹⁷⁵. Sin embargo, al mezclar NaOCl con AM, aunque el contenido de cloro disponible se reduce, cuando las proporciones de combinación son 10: 1 y 5: 1 el porcentaje se mantiene entre el 92,92% y 78,77%, respectivamente¹⁷⁶.

Además, NaOCl asociado con EDTA, AC y AF conduce, principalmente, a la formación de gas cloro¹⁷⁷. El cloro en forma de gas es volátil y por lo tanto, inestable¹⁷⁸. El efecto de efervescencia o “burbujeo” que se origina y que se utiliza para abogar por el uso de estas soluciones, no es más que la prueba de la reacción química que se produce entre NaOCl y los agentes quelantes y que resulta de la evaporación del gas cloro; el cual, se genera por la reducción del pH de NaOCl y tiene efectos potencialmente peligrosos para la salud de los seres humanos¹⁷⁹.

Por otra parte, NaOCl no reduce la capacidad de los agentes quelantes para eliminar la capa de barrillo dentinario. La degradación y desactivación de EDTA

¹⁷⁴ Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, et al. Chelation in root canal reconsidered. J Endod 2005;31:817–20.

¹⁷⁵ Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Dođramacı EJ, et al. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. Int Endod J. 2011;44:792–9.

¹⁷⁶ Ballal NV, Moorkoth S, Mala K, Bhat KS, Hussien SS, Pathak S. Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod. 2011;37:1402-5.

¹⁷⁷ Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM, Pinto AC, Faria RB, Simão RA, Gomes BP. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: a chemical analysis. J Endod. 2013;39:505-10.

¹⁷⁸ Len SV, Hung YC, Chung D, Anderson JL, Erickson MC, et al. Effects of storage and pH on chlorine loss in Electrolyzed Oxidizing (EO) water. J Agric Food Chem. 2002;50:209–12.

¹⁷⁹ Baumgartner JC, Ibay AC. The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. J Endod 1987;13:47–51.

después de su interacción con NaOCl es, extremadamente, lenta y por lo tanto, no compromete su rendimiento clínico con respecto a su acción quelante¹⁸⁰.

INTERACCIÓN ENTRE HIPOCLORITO DE SODIO Y CLORHEXIDINA

Es importante conocer que CLX no se puede utilizar justo después del uso de NaOCl (y viceversa) ya que ambos interaccionan provocando la aparición de un precipitado de color naranja-marrón¹⁸¹. La formación de este precipitado podría ser explicado por la reacción ácido-base que se produce cuando NaOCl y CLX se mezclan entre sí. CLX es un ácido dicatiónico, por lo que tiene la capacidad de donar protones, mientras que NaOCl es alcalino, lo que significa que puede aceptarlos del ácido dicatiónico. Este intercambio de protones tiene como resultado la formación de una sustancia neutra e insoluble que contiene una cantidad significativa de paracloroanilina (PCA), un producto derivado de la hidrólisis de CLX¹⁸², y que ha demostrado ser tóxico a corto plazo para los seres humanos. Además, la formación de este precipitado reduce la permeabilidad de la dentina¹⁸³ y provoca la penetración del colorante en los conductos radiculares¹⁸⁴ actuando como una capa “química” de barrillo que puede interferir con el sellado del conducto radicular. Para evitar la formación de este precipitado, Zehnder¹⁸⁵ recomendó el secado del conducto utilizando puntas de papel antes del enjuague

¹⁸⁰ Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod.* 2005;31:817-20.

¹⁸¹ Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, et al. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod* 2007;33:966-9.

¹⁸² Heard DD, Ashworth RW. The colloidal properties of chlorhexidine and its interaction with some macromolecules. *J Pharm Pharmacol.* 1968;20:505-12.

¹⁸³ Akisue E, Tomita VS, Gavini G, Poli de Figueiredo JA. Effect of the combination of sodium hypochlorite and chlorhexidine on dentinal permeability and scanning electron microscopy precipitate observation. *J Endod.* 2010;36:847-50.

¹⁸⁴ Vivacqua-Gomes N, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, et al. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root filling. *Int Endod J.* 2002;35:791-5.

¹⁸⁵ Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32:389-98. Review.

final con CLX; Basrani y cols.¹⁸⁶ y Bui y cols.¹⁸⁷ recomendaron el lavado del conducto radicular con agua o alcohol, previamente a la aplicación de CLX.

INTERACCIÓN ENTRE CLORHEXIDINA Y AGENTES QUELANTES

Está demostrado que la mezcla de CLX y EDTA produce un precipitado muy insoluble de color blanco¹⁸⁸ debido, probablemente, a la formación de una sal por la neutralización de CLX (catiónica) por EDTA (aniónico). Químicamente, esta sal está compuesta en el 90% por CLX y EDTA, mientras que el 10% restante está formado por agua, gluconato y sodio. Aunque sus propiedades no se han investigado en profundidad todavía, parece que reduce la capacidad de EDTA para eliminar el barrillo dentinario¹⁸⁹.

Sin embargo, cuando CLX se mezcla con AC no se produce ninguna modificación de su capacidad de desmineralización o precipitación¹⁹⁰. Se ha demostrado que AC al 15% seguido de CLX al 2% provoca la formación de una solución lechosa que puede ser, fácilmente, eliminada mediante el uso de más CLX sin que se produzca precipitación¹⁹¹. Finalmente, se ha demostrado que cuando se utiliza AM al 7% como agente quelante y se mezcla con CLX al 2% no se produce la formación de precipitado, aunque si una reducción marginal en la disponibilidad de CLX¹⁹².

¹⁸⁶ Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod. 2007;33:966-9.

¹⁸⁷ Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. J Endod. 2008;34:181-5.

¹⁸⁸ Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. J Endod. 2008;34:1521-3.

¹⁸⁹ Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. Dent Clin North Am. 2010;54:291-312.

¹⁹⁰ González-López S, Cornejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolaños-Carmona V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid, or 17% EDTA. J Endod. 2006;32:781-4.

¹⁹¹ Akisue E, Tomita V, Gavini G, Poli de Figueiredo JA. Effect of the combination of sodium hypochlorite and chlorhexidine on dentinal permeability and scanning electron microscopy precipitate observation. J Endod. 2010;36:847-50.

¹⁹² Ballal NV, Moorkhot S, Mala K, Bhat KS, Hussien SS, *et al.* Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod 2011;37:1402-5.

2.4. PROTOCOLOS DE IRRIGACIÓN EN ENDODONCIA

Las soluciones irrigadoras empleadas en el tratamiento endodóntico deben administrarse de tal manera que puedan desarrollar todo su potencial y alcanzar así, todas sus funciones en el conducto radicular. Además, la irrigación debe ser tan frecuente e intensa como la contaminación presente en el conducto radicular, siendo el volumen de la solución más importante que la concentración de la misma¹⁹³.

En un protocolo de irrigación convencional¹⁹⁴, la solución de NaOCl se emplea durante toda la instrumentación sin alternar con un agente quelante. La irrigación debe ser frecuente y abundante durante todo el tratamiento, lo que permite que se aumente el tiempo de trabajo del irrigante. Se recomienda irrigar el conducto con una aguja delgada que penetre hasta llegar a longitud de trabajo, para evitar su extravasación a los tejidos periapicales. La irrigación debe realizarse de forma lenta y con baja presión, tras cada cambio de lima y debe aspirarse el exceso con un succionador. Se aconseja irrigar con volúmenes de líquido grandes (2 a 5 ml por conducto) y para la irrigación final, se recomiendan 5-10 ml de NaOCl, seguido de 5 a 10 ml de EDTA al 17% o AC al 10% durante 1 min. Después de la eliminación de la capa de barrillo dentinario, se empleará un nuevo enjuague con NaOCl. Para finalizar la preparación químico-mecánica del conducto se realiza su secado con puntas de papel estériles equivalentes a la lima maestra.

¹⁹³ Siqueira JF Jr, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5% and 5.25% sodium hypochlorite. J. Endodon. 2000; 26:331-34.

¹⁹⁴ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389-98. Review.

En un protocolo de irrigación alternada^{195,196} se combina NaOCl y un agente quelante durante toda la instrumentación del conducto radicular. El uso alternado de NaOCl y sustancias ácidas o quelantes produce interacciones y ocasionan cambios superficiales en la dentina¹⁹⁷, lo que dificulta la recolonización de *E. faecalis*¹⁹⁸. Estudios recientes, confirman que el régimen de irrigación influye en la eficacia de eliminación de *E. faecalis* de los conductos radiculares cuando se utilizan soluciones de EDTA¹⁹⁹ y AC²⁰⁰ alternado con NaOCl.

2.5. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS SOLUCIONES IRRIGADORAS FRENTE A BIOPELÍCULAS DE *E. FAECALIS*

Un factor de virulencia importante asociado con *E. faecalis* es su capacidad para formar y permanecer en forma de biopelícula²⁰¹. Los microorganismos que poseen este modo de crecimiento están rodeados por una matriz polimérica extracelular que confiere resistencia frente a los agentes antimicrobianos²⁰². En consecuencia, los estudios recientes han tratado de evaluar, por una parte, la eficacia de las soluciones irrigadoras utilizadas en el tratamiento endodóntico frente a *E. faecalis* crecido en forma de biopelícula y por otra parte, también se evalúan los protocolos de irrigación, ya que permiten alcanzar una mejora en la

¹⁹⁵ Soares JA, Roque de Carvalho MA, Cunha Santos SM, Mendonça RM, Ribeiro-Sobrinho AP, *et al.* Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of sodium hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod 2010;36:894-8.

¹⁹⁶ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, *et al.* Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46:217-24.

¹⁹⁷ Moreira DM, Almeida JF, Ferraz CC, Gomez BP, Line SR, *et al.* Structural análisis of bivariate root dentin after use of different endodontics auxiliary chemical substances. J Endod. 2009;35:1023-7.

¹⁹⁸ Kishen A, Sum CP, Mathew S, Lim CT. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. J Endod. 2008;34:850-4.

¹⁹⁹ Soares JA, Roque de Carvalho MA, Cunha Santos SM, Mendonça RM, Ribeiro-Sobrinho AP, *et al.* Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of sodium hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2010;36:894-8.

²⁰⁰ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, *et al.* Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46:217-24.

²⁰¹ Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals *ex vivo*. Int Endod J. 2005;38:735-42.

²⁰² Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. ClinMicrobiol Rev. 2002 15, 167-93. Review.

desinfección y garantizar una mayor efectividad y actividad antimicrobiana residual en los tratamientos endodónticos.

Para realizar la revisión de los estudios que evalúan la eficacia a corto plazo y la actividad antimicrobiana residual de soluciones irrigadoras frente a biopelículas de *E. faecalis* en dentina y conductos radiculares, se realizó una búsqueda en PubMed (2001–2014) utilizando las siguientes estrategias:

1. *[Biofilm OR Biofilms] AND Enterococcus faecalis AND irrigants.*
2. *Enterococcus faecalis AND irrigants AND chelating agents.*
3. *Antimicrobial activity AND Enterococcus faecalis AND root canals.*
4. *Residual antimicrobial activity AND Enterococcus faecalis AND root canals.*

A partir de los resultados obtenidos se seleccionaron aquellos artículos que se adaptaban a los objetivos de este trabajo de Tesis Doctoral. En la Tabla 2.2 se han resumido y sistematizado todas las publicaciones, incluyendo las soluciones irrigadoras estudiadas, el material y métodos empleados y los resultados y conclusiones principales.

Tabla 2.2. Estudios que evalúan *ex vivo* la efectividad y actividad antimicrobiana residual de soluciones irrigadoras frente a biopelículas de *E. faecalis*.

Referencia	Soluciones	Material y Métodos	Resultados y Conclusiones
Guerreiro-Tanomaru JM y cols. 2014 ²⁰³	NaOCl 2,5 % CTR 0,2 % CLX 2 % QMIX H ₂ O destilada	Bloques de dentina bovina infectados 14 días con EF (ATCC29212) expuestos 1 min a 7 soluciones (n=3/grupo): 1.NaOCl 2,5 %; 2. NaOCl 2,5% + CTR 0,2%; 3. CLX 2%; 4. CLX 2% + CTR 0,2%; 5. CTR 0,2%; 6. QMiX y 7. Grupo Control (H ₂ O destilada). Evaluación: Live/Dead® BacLight para determinar el porcentaje de bacterias vivas y muertas.	NaOCl y NaOCl+CTR mostraron la mayor capacidad de reducción total y de biovolumen. CTR y QMiX redujeron el biovolumen en comparación con el grupo control (p < 0,05). CLX, CLX+CTR, mostraron resultados similares al grupo control (p > 0,05) y similares entre ellos.
Nakamura VC y cols. 2013 ²⁰⁴	NaOCl 1% NaOCl 5,25% AC 15% SS	Conductos unirradiculares humanos infectados 28 días con EF (ATCC29212) y CA. Comparan 2 técnicas de instrumentación: manual (limas K) y rotatoria (ProTaper®) y 4 Sol. irrigadoras/técnica. Irrigación con 22ml (n=10/grupo): 1. SS; 2. NaOCl 1%; 3. NaOCl 1% alternado con AC 15%; 4. NaOCl 5,25%. Evaluación: 1. Toma de muestra antes y después de la instrumentación con puntas papel/1 min/incubadas 48h; 2. Virutas de dentina tras la instrumentación incubadas 48h. Se realizaron recuentos de UFCs.	No hubo diferencias significativas entre las técnicas de instrumentación empleadas. NaOCl 1% alternado con AC 15% (grupo 3) y NaOCl 5,25% (grupo 4) fueron más eficaces que SS (grupo 1) y NaOCl 1% (grupo 2) en la reducción de EF y CA en virutas de dentina.
Ferrer-Luque CM y cols. 2013 ²⁰⁵	CTR 0,2% CLX 0,2% CLX 2%.	Conductos unirradiculares humanos infectados 4S con EF (ATCC29212). Instrumentación con Sistema Protaper® e irrigación DI con 1 ml NaOCl 5,25 % tras cada lima. 3 grupos de IF con 5ml (n=26/grupo) 1 min: 1. CTR 0,2%; 2. CLX 0,2%; 3. CLX 2%. Evaluación: toma de muestra diaria (60 días) con puntas de papel. Prueba positiva al detectarse crecimiento bacteriano.	Irrigación final con CLX 2% mostró mayor actividad antimicrobiana residual, con diferencias estadísticamente significativas con los otros dos grupos. No hubo diferencias entre CTR 0,2% y CLX 0,2%.

²⁰³ Guerreiro-Tanomaru JM, Nascimento CA, Faria-Júnior NB, Graeff MS, Watanabe E, *et al.* Antibiofilm activity of irrigating solutions associated with cetrimide. Confocal laser scanning microscopy. *Int Endod J.* 2014;47:1058-63.

²⁰⁴ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, *et al.* Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. *Int Endod J.* 2013;46:217-24.

²⁰⁵ Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, Ruiz-Linares M, Martínez-García ME, Baca P. Residual activity of cetrimide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *Int J Oral Sci.* 2013;6:46-9.

Referencia	Soluciones	Material y Métodos	Resultados y Conclusiones
Ferrer-Luque CM y cols. 2012 ²⁰⁶	EDTA 17 % AM 7 % AL 10 % CTR 0,2%	Conductos unirradiculares humanos infectados 4S con EF (ATCC29212). Instrumentación Sistema ProTaper® e irrigación DI / 1 ml NaOCl 5,25% / lima. 6 grupos de IF con 5ml (n=15/grupo) 1 min: 1. EDTA 17%; 2. EDTA 17%+CTR 0,2%; 3. AM 7%; 4. AM 7%+CTR 0,2%; 5. LA 10%; 6. AL 10%+CTR 0,2%. Evaluación: toma de muestra diaria (60 días) con puntas de papel. Prueba positiva al detectarse crecimiento bacteriano.	El uso combinado de CTR con agentes quelantes retrasó el recrecimiento bacteriano más que la utilización de agentes quelantes solos.
Soares JA y cols. 2010 ²⁰⁷	NaOCl 5,25 % EDTA 17 % SS 0,85 %	Conductos unirradiculares humanos instrumentados hasta K #25, infectados 21 días con EF (ATCC19433). 3 grupos de estudio irrigados con 15 ml (n=12/grupo): 1. SS 0,85 %; 2. NaOCl 5,25 % DI e IF EDTA 17% seguido de NaOCl 5,25%; 3. IA con NaOCl 5,25%/EDTA 17%/NaOCl 5,25%. Evaluación: toma inicial y diaria (14 días) con puntas de papel. Se realizaron recuentos de UFCs.	A los 14 días, el régimen de irrigación alternado fue el único grupo en el que ningún espécimen mostró crecimiento, permitiendo un control bacteriano a largo plazo. El régimen de irrigación influyó en la eficacia de eliminación de EF de los conductos radiculares.
Mohammadi Z y cols. 2008 ²⁰⁸	BioPureMATD CLX 2% NaOCl 2,6%	Secciones de 4 mm dentina radicular humana infectadas con EF (ATCC 29212) 14 días. Divididas en 5 grupos y rellenados los conductos con las soluciones, 10min: 1. BioPure MATD (n=30); 2. CLX 2% (n=30); 3. NaOCl 2,6% (n=30); 4. Control positivo (n=10); 5. Control negativo (n=10). Se incubaron 28 días. Evaluación: virutas de dentina obtenidas a los días 0, 7, 14, 21 y 28 con fresas redonda. Se realizaron recuentos de UFCs.	BioPure MTAD mostró la mayor acción antibacteriana residual a los 7, 14, 21 y 28 días. NaOCl 2,6% mostró la actividad antibacteriana mayor a día 0.

²⁰⁶ Ferrer-Luque CM, Conde-Ortiz A, Arias-Moliz MT, Valderrama MJ, Baca P. Residual activity of chelating agents and their combinations with cetrимide on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2012;38:826-8.

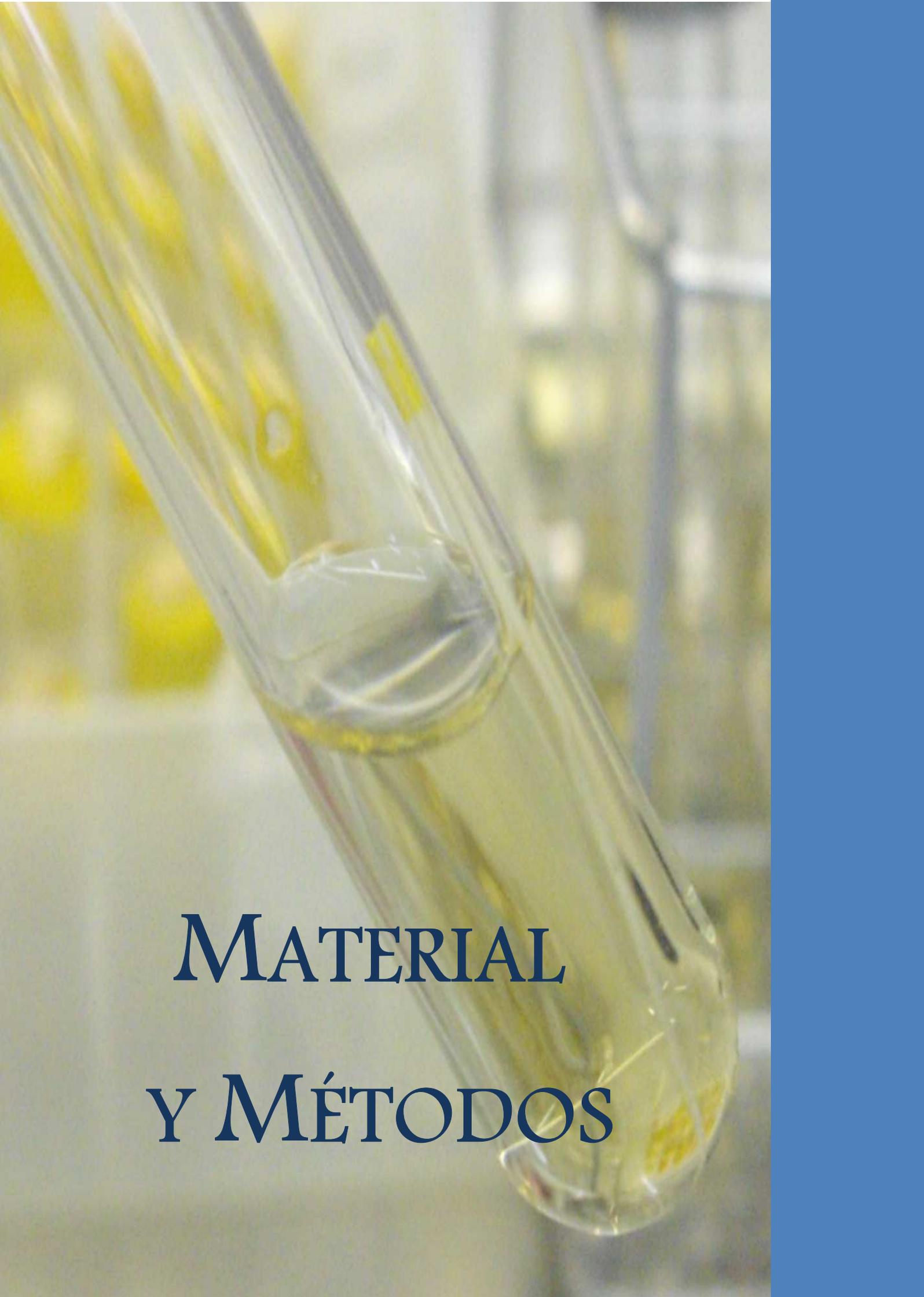
²⁰⁷ Soares JA, Roque de Carvalho MA, Cunha Santos SM, Mendonça RM, Ribeiro-Sobrinho AP. Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of sodium hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2010;36:894-8.

²⁰⁸ Mohammadi Z, Shahriari S. Residual antibacterial activity of chlorhexidine and MTAD in human root dentin *in vitro*. J Oral Sci. 2008;50:63-7.

Referencia	Soluciones	Material y Métodos	Resultados y Conclusiones
Basrani B y cols. 2002 ²⁰⁹	Gel CLX 2% Gel CLX 0,2% Sol. CLX 2% Ca(OH) ₂ CDR SS	Secciones de 6 mm de raíces humanas, instrumentadas con Gates-Glidden #3. Ocho grupos con diferentes medicamentos/7 días: 1. Gel CLX 2% (n=15); 2. Gel CLX 0,2% (n=15); 3. Sol. CLX 2% (n=15); 4. Ca(OH) ₂ (n=15); 5. Ca(OH) ₂ +Gel CLX 0,2% (n=15); 6. Sol. CLX 2% en un dispositivo de liberación (n=13); 7. SS (n=5); 8. CDR (n=5). Evaluación: se eliminó el medicamento y se infectaron con EF (ATCC29212) 21 días; 2 tomas de virutas de dentina. Determinación de crecimiento bacteriano por DO.	Los grupos tratado con CLX 2% (grupos 1,3 y 6) tuvo valores de DO menores que los grupos control (7 y 8), con diferencias significativas tanto para la muestra interna como la externa. La CLX 2% puede proporcionar actividad antimicrobiana residual contra EF en los conductos tratados durante 1S.

NaOCl: hipoclorito de sodio; CTR: cetrimida; CLX: clorhexidina; QMIX®: EDTA 17%, CLX 2% y bromuro de cetiltrimetilamonio; H₂O: agua; EF: *E. faecalis*; min: minutos; MLC: microscopio láser confocal; AC: ácido cítrico; SS: solución salina; UFCs: unidades formadoras de colonias; CA: *Candida albicans*; ml: mililitros; h: horas; S:Semana; ID: irrigación durante la instrumentación; IF: irrigación final; EDTA: ácido etilendiamino tetraacético; AM: ácido maleico; AL: ácido láctico; IA: irrigación alterna; BioPureMATD®: tetraciclina, doxiciclina al 3%, ácido cítrico 4,25% y Tween 80 al 0,5%; Sol: solución; Ca(OH)₂: hidróxido de calcio; CDR: dispositivo de liberación controlada biodegradable de CLX; DO: densidad óptica

²⁰⁹ Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, *et al.* Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;94:240-5.



**MATERIAL
Y MÉTODOS**

3.1. MATERIAL

En la Tabla 3.1 se detallan todos los materiales utilizados para la realización de este trabajo de investigación:

Tabla 3.1. Materiales empleados.

	Material	Fabricante
Muestra	140 dientes unirradiculares humanos	
Conservación de las muestras	Timol al 0,1%	Panreac, Montplet & Esteban Barcelona, España
Preparación de los especímenes	Cureta periodontal	Gracey ^{3/4} , Hu-Friweigniederlassung Deutschland, Rudolf-Diesel-Str. 8 D-69181 Leimen, Europe
	Calibrador	Leone S.p.A, Via P. a Quaracchi, 50 - 50019 Sesto Fiorentino, Firenze
	Cortadora Accuton-50	Struers A/S, Copenhagen, Denmark
Preparación mecánica	Limas K números 10 y 15	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland
	Motor de endodoncia X-Smart	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland
	Limas ProTaper® del nº SX a F3	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland
	Puntas de papel F3 y #15	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland
	Jeringa y aguja de irrigación de calibre 30	Endo-M-Block®, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland
	Regla de endodoncia	MONOJET™, Sherwood Medical. ST Louis, MO. USA
	Agua destilada	
Microorganismo	<i>Enterococcus faecalis</i> CECT 795 (denominación internacional: ATCC 29212)	Colección Española de Cultivos Tipo, CECT, Valencia, España
Esterilización de los especímenes	Autoclave	Hirayama HMC Europe GmbH, Zuletzt aktualisiert von PoPart or-und Kellerstr. 184577 Tüßling
	Medio de cultivo	BHI. Scharlau Chemie SA, Barcelona, España
	Eppendorf de 1,5 ml	Elkay, Shrewbury, MA, USA

	Material	Fabricante
Soluciones irrigadoras	Solución salina al 0,9%	Panreac Química S.L.U. Barcelona, España
	Hipoclorito de sodio al 2,5%	Panreac Química S.L.U. Barcelona, España
	Ácido maleico al 7%	Panreac Química S.L.U. Barcelona, España
	Cetrimida al 0,2%	Sigma-aldrich, Co., ST Louis, MO. USA
	Clorhexidina al 2%	Guinama S.L.U. Valencia, España
Preparación de <i>E. Faecalis</i>	Medios de cultivo para aislamiento e identificación	BHI, Scharlau Chemie S.A., Barcelona, España Agar Columbia + 5% de sangre de cordero, BioMérieux S.A., Marcy l'Etoile, Francia
	Eppendorf de 1,5 ml	Elkay, Shrewbury, MA, USA
	Vórtex	VELP Scientifica SRL via Stazione 16 20865 Usmate (MB), Italy
	Micropipeta con volumen ajustable	Finnpipette, Boeco, Boeckel + Co, GmbH +Co, Hamburg, Germany
	Puntas de micropipeta	Finnpipette, Boeco, Boeckel + Co, GmbH +Co, Hamburg, Germany
	Puntas de papel #20	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland
	Campana de flujo laminar	Telstar S.A., Modelo Bio-II-B, Tarrasa, España
	Estufa	Raypa S.L. Pol. Ind. "Els Bellots" 08227 Terrassa, Barcelona, España
Soporte informático	Ordenador Intel Pentium dual-core, 1Gb Memoria RAM y 120 Gb de disco duro.	Acer Inc. Investor Relations 8F, 88, Section 1, Hsin Tai Wu Rd.Hsichih, Taipei Hsien 221, Taiwan
	Programa estadístico SPSS/PC+, versión 20.0	SPSS Inc. Headquarters, 233 S. Wacker Drive, 11th floor Chicago, Illinois 60606 USA
Otros materiales	Perlas de cera	Daen, Lab. Ibercosmetic S.L.b Espulgues de Llobregat, España
	Espatula de cera	Asa Dental s.p.a. uninominale-Via alenzana 60 -55054-Bozzano, LU, Italy
	Material de impresión polivinil-siloxano	Zhermack, Rovigo, Italia
	Cianoacrilato	Super Glue-3, Henkel Ibérica, S.A., Barcelona, España
	Rotuladores indelebles	STAEDTLER Mars GmbH & Co. Moosaeckerstraße 3 90427 Nuernberg, Germany
	Pinzas	Asa Dental s.p.a. uninominale-Via Valenzana 60 -55054-Bozzano, LU, Italy
	Mechero	

3.2. MÉTODOS

El protocolo de trabajo seguido en este estudio experimental fue, previamente, aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Granada (código 438).

RECOGIDA DE LA MUESTRA

Para la realización de este estudio se han utilizado 140 dientes humanos unirradiculares (Figura 3.1) extraídos, libres de caries, raíces rectas y con ápices maduros. Los dientes se recogieron después de que los pacientes, previamente informados, dieran su consentimiento. Tras un raspado inicial con curetas Gracey nº 3/4, para eliminar mecánicamente cualquier resto de sarro o tejido periodontal remanente, se mantuvieron en una solución de timol al 0,1% a 4°C hasta su utilización. El periodo de tiempo máximo no excedió de 2 meses hasta su utilización. Antes de ser procesados, los dientes se aclararon con agua destilada para eliminar la solución de timol.



Figura 3.1. Muestra de dientes utilizados en el estudio.

PREPARACIÓN DE LOS ESPECÍMENES Y ASIGNACIÓN ALEATORIA

La corona de todos los dientes se eliminó con una cortadora Accuton-50. Para facilitar su manipulación, los dientes se fijaron con cera a un molde de resina (Figura 3.2). La longitud radicular de todos los especímenes se estandarizó a 12mm (Figura 3.3).

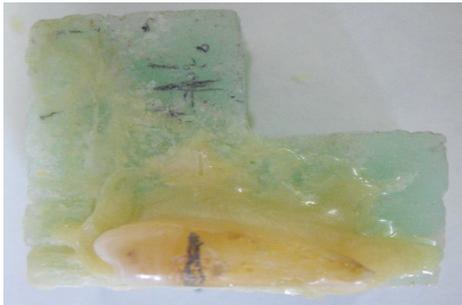


Figura 3.2. Montaje del diente para su corte.

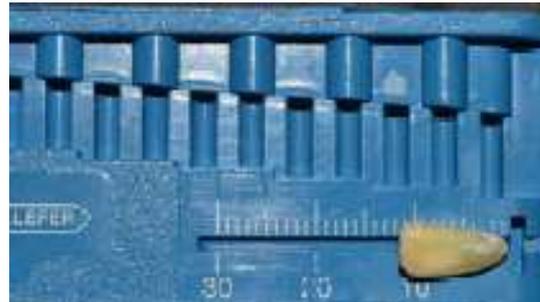


Figura 3.3. Estandarización de la longitud radicular.

La permeabilidad de los conductos radiculares se confirmó mediante la inserción de una lima K #15 (Dentsply, Maillefer Ballaigues, Suiza) (Figura 3.4) 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.

Para facilitar la manipulación de los especímenes durante la secuencia de instrumentación, se fabricó un molde personalizado de cada diente con material de impresión polivinil-siloxano (Zhermack, Rovigo, Italia) (Figura 3.5).

Cada espécimen radicular y su correspondiente molde personalizado se identificaron de forma numérica (Figura 3.6). Los especímenes se introdujeron en un Eppendorf, que contenía 1,5 ml de caldo infusión de cerebro y corazón (BHI) (Scharlau Chemie SA, Barcelona, España) y se esterilizaron, al igual que los moldes de silicona, en autoclave a 121°C a 1 atmósfera de presión durante 30 minutos. Para comprobar la esterilidad, cada espécimen en BHI fue incubado durante 1 semana a 37 °C,

realizándose una inspección diaria. La esterilidad se aseguró en todos los casos por la ausencia de turbidez en el caldo BHI.

De forma aleatoria, 12 especímenes fueron asignados a cada uno de los 10 grupos de estudio (12 x 10 grupos=120). Estos especímenes fueron inoculados con *E. faecalis*, así como instrumentados e irrigados con los diferentes protocolos. Otros dos especímenes por grupo (2 x 10 grupos =20), que sirvieron como controles negativos o de esterilidad, no fueron inoculados pero sí instrumentados e irrigados también con los mismos protocolos.



Figura 3.4. Permeabilización del conducto radicular.



Figura 3.5. Molde personalizado.



Figura 3.6. Identificación de los moldes y especímenes.

INOCULACIÓN CON *E. FAECALIS*

De un subcultivo de *E. faecalis*, cepa CECT 795 (denominación internacional es ATCC 29212), se preparó en BHI una suspensión 1 de McFarland estándar (que contiene aproximadamente 3×10^8) y luego se diluyó 30 veces para obtener una suspensión bacteriana inicial de aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mililitro (UCFs/ml). Posteriormente, 1,2 mL de esta suspensión y el diente esterilizado se añadieron a un tubo Eppendorf de 1,5 ml y se incubaron durante 4 semanas en condiciones aerobias a 37 °C, con reinoculación realizada cada 7 días²¹⁰. Tras el período de incubación y en la campana de flujo laminar,

²¹⁰ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. J Endod. 2011; 37:1121-3.

para evitar cualquier contaminación (Figura 3.7), se retiraron los especímenes de los Eppendorf.

A continuación, se sellaron los ápices con cianoacrilato y se insertaron dentro de cada molde personalizado. También se selló con cianoacrilato la interfase entre la superficie externa del espécimen y su correspondiente molde (Figura 3. 8).

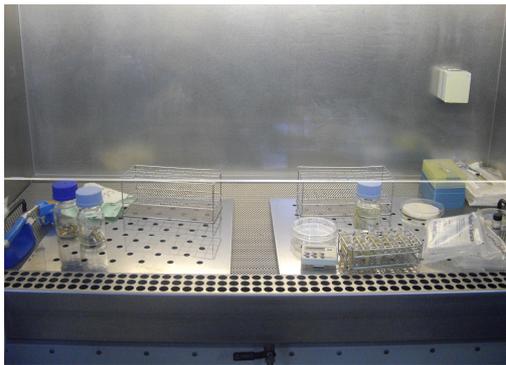


Figura 3.7. Campana de flujo laminar.



Figura 3.8. Especímenes en sus moldes sellados con cianoacrilato.

RECOGIDA DE LA MUESTRA MICROBIOLÓGICA BASAL

Posteriormente, y antes de la instrumentación químico-mecánica, se tomaron muestras de los conductos radiculares para el recuento bacteriano. Para obtener la muestra basal se insertó en el conducto, a longitud de trabajo, una lima K #15 estéril y se realizaron movimientos circunferenciales durante 30 segundos. Consecutivamente, se insertó en el conducto 1 punta de papel estéril de tamaño #20 y 10 μl BHI. La punta se retiró a los 20 segundos. Este proceso se repitió con otras dos puntas más. Seguidamente, la lima K y las 3 puntas de papel se transfirieron a un tubo Eppendorf con 500 μl de caldo BHI estéril y se agitaron con vórtex durante 30 segundos. Después se realizaron 5 diluciones seriadas, de 10^{-1} a 10^{-5} , en solución salina en placas de microtiter. Para ello, se transfirieron 20 μl de la suspensión del Eppendorf a 180 μl de solución salina. Del Eppendorf y

de cada dilución se sembraron 10 μ l en placas de Petri con ágar BHI que se incubaron a 37°C durante 24 h, tras lo cual se realizó el recuento de UFCs. Los resultados se expresaron como UFCs/ mL.

INSTRUMENTACIÓN QUÍMICO-MECÁNICA DE LOS ESPECÍMENES

La instrumentación de todos los especímenes se realizó siempre por el mismo operador (SGC) y mediante el Sistema ProTaper[®] (Dentsply Maillefer) a longitud de trabajo, el cual utiliza 6 limas con la siguiente secuencia de limado: SX, S1, S2, F1, F2 y F3. Se utilizó una lima K #15 entre cada lima ProTaper[®] para mantener la permeabilidad del conducto radicular. La irrigación, durante y después de la instrumentación, se llevó a cabo mediante una jeringa de 5 ml de capacidad a la que se acopló una aguja Monojet[®] de calibre 30.

En la Tabla 3.2 se detallan los grupos experimentales, clasificados en función de 3 protocolos de irrigación durante la instrumentación y de varios protocolos de irrigación final.

Para cada uno de los protocolos de estudio se realizó todo el proceso de instrumentación-irrigación en un total de 14 especímenes, 12 inoculados con *E. faecalis* y 2 sin contaminar como controles negativos.

Tabla 3.2. Grupos de estudio (n=12/grupo).

Grupo	Soluciones irrigadoras durante la instrumentación	Soluciones irrigadoras finales
1		NaOCl 2,5%
2		AM 7%
3	A	AM 7% + CTR 0,2%
4	NaOCl 2,5%	AM 7% + CLX 2%
5		AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%
6	B	AM 7% + CLX 2%
7	NaOCl 2,5% alternado con AM 7%	AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%
8	C	AM 7% + CLX 2%
9	NaOCl 2,5% alternado con AM 7% + CTR 0,2%	AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%
10	Control SS 0,9%	SS 0.9%.

NaOCl: Hipoclorito de sodio. AM: ácido maleico; CTR: cetrimida; CLX: clorhexidina. SS: Solución salina; A: irrigación convencional; B/C: irrigación alternada.

A continuación se expone la descripción de los distintos protocolos utilizados en el estudio.

A. Protocolo de irrigación convencional o NaOCl durante la instrumentación.

En estos 5 grupos se utilizó 1 mL de NaOCl al 2,5% durante la instrumentación tras cada cambio de lima. Los volúmenes y secuencia se detallan en la Tabla 3.3.

Grupo 1. Hipoclorito de sodio (NaOCl). Irrigación final con 5 ml de NaOCl al 2,5%.

Grupo 2. Ácido maleico (AM). Irrigación final con 5 ml de ácido maleico al 7%.

Grupo 3. Ácido maleico + cetrimida (AM + CTR). Irrigación final con 5 ml de ácido maleico al 7% + cetrimida al 0,2%.

Grupo 4. Ácido maleico + clorhexidina (AM + CLX). Irrigación final con 5 ml de ácido maleico al 7% + clorhexidina al 2%.

Grupo 5. Ácido maleico + cetrimida + clorhexidina (AM + CTR + CLX). Irrigación final con 5 ml de ácido maleico al 7% + cetrimida al 0,2% + clorhexidina al 2%.

B. Protocolo de irrigación alternada NaOCl – AM durante la instrumentación.

En estos 2 grupos se utilizó 1 mL de NaOCl al 2,5% seguido de 0,5 mL de AM al 7% durante la instrumentación tras cada cambio de lima. Los volúmenes y secuencia se detallan en la Tabla 3.4.

Grupo 6. Alternada NaOCl – AM. Irrigación final AM + CLX. Irrigación final con 2 ml de ácido maleico al 7% + clorhexidina al 2%.

Grupo 7. Alternada NaOCl – AM. Irrigación final AM + CLX + CTR. Irrigación final con 2 ml de ácido maleico al 7% + cetrimida al 0,2% + clorhexidina al 2%.

C. Protocolos de irrigación alternada. NaOCl – AM + CTR durante la instrumentación.

En estos 2 grupos se utilizó 1 mL de NaOCl al 2,5% seguido de 0,5 mL de AM al 7% + CTR al 0,2% durante la instrumentación tras cada cambio de lima. Los volúmenes y secuencia se detallan en la Tabla 3.4.

Grupo 8. Alternada NaOCl – AM + CTR. Irrigación final AM + CLX. Irrigación final con 2 ml de ácido maleico al 7% + clorhexidina al 2%.

Grupo 9. Alternada NaOCl – AM + CTR. Irrigación final AM + CTR + CLX. Irrigación final con 2 ml de de ácido maleico al 7% + cetrimida al 0,2% + clorhexidina al 2%.

D. Grupo Control de solución salina durante la instrumentación.

En este grupo se utilizó 1 mL de SS al 0,9% durante la instrumentación tras cada cambio de lima.

Grupo 10. Solución salina (SS). Irrigación final con 5 ml de SS al 0,9%.

Tras la instrumentación de los conductos y antes de proceder a la irrigación final, todos los especímenes de todos los grupos se irrigaron con 2 ml de agua destilada y se secaron con puntas de papel estériles (Dentsply Maillefer). En todos los grupos de estudio, la solución de irrigación final se mantuvo en el conducto durante 1 minuto. El volumen total de soluciones utilizadas durante y después de la instrumentación fue de 13 ml.

Tabla 3.3. Preparación químico-mecánica de los especímenes con irrigación convencional.

Protocolo de irrigación convencional e instrumentación												
Soluciones irrigadoras durante la instrumentación										Soluciones irrigadoras finales		
	Grupo	Protocolo							Vol (ml)	Protocolo	Vol. (ml)	Volumen Total (ml)
A	1	SX + 1 ml	S1 + 1 ml	S2 + 1 ml	F1 + 1 ml	F2 + 1 ml	F3 + 1 ml	2 ml H ₂ O	6+2	NaOCl 2,5%	5	13
	2	SX + 1 ml	S1 + 1 ml	S2 + 1 ml	F1 + 1 ml	F2 + 1 ml	F3 + 1 ml	2 ml H ₂ O	6+2	AM 7%	5	13
	3	SX + 1 ml	S1 + 1 ml	S2 + 1 ml	F1 + 1 ml	F2 + 1 ml	F3 + 1 ml	2 ml H ₂ O	6+2	AM 7% + CTR 0,2%	5	13
	4	SX + 1 ml	S1 + 1 ml	S2 + 1 ml	F1 + 1 ml	F2 + 1 ml	F3 + 1 ml	2 ml H ₂ O	6+2	AM 7% + CLX 2%	5	13
	5	SX + 1 ml	S1 + 1 ml	S2 + 1 ml	F1 + 1 ml	F2 + 1 ml	F3 + 1 ml	2 ml H ₂ O	6+2	AM 7% + CTR 0,2%+ CLX 2%	5	13

NaOCl: hipoclorito de sodio; AM: ácido maleico; CTR: cetrimida; CLX: Clorhexidina; H₂O: agua destilada; SX, S1, S2, F1, F2, F3: limas de Sistema ProTaper®; A: irrigación convencional; Vol: volumen; ml: mililitros.

Tabla 3.4. Preparación químico-mecánica de los especímenes con irrigación alternada.

Protocolo de irrigación alternada e instrumentación													
Soluciones irrigadoras durante la instrumentación										Soluciones irrigadoras finales			
Grupo		Protocolo							Vol. (ml)	Protocolo	Vol. (ml)	Volumen Total (ml)	
B	NaOCl al 2,5% alternado con AM 7%	6	SX + 1 ml + 0,5 ml	S1 + 1 ml + 0,5 ml	S2 + 1 ml + 0,5 ml	F1 + 1 ml + 0,5 ml	F2 + 1 ml + 0,5 ml	F3 + 1 ml + 0,5 ml	2 ml H ₂ O	6+3+2	AM 7% + CLX 2%	2	13
		7	SX + 1 ml + 0,5 ml	S1 + 1 ml + 0,5 ml	S2 + 1 ml + 0,5 ml	F1 + 1 ml + 0,5 ml	F2 + 1 ml + 0,5 ml	F3 + 1 ml + 0,5 ml	2 ml H ₂ O	6+3+2	AM 7% + CTR 0,2%+ CLX 2%	2	13
C	NaOCl al 2,5% alternado con AM 7% + CTR 0,2%	8	SX + 1 ml + 0,5 ml	S1 + 1 ml + 0,5 ml	S2 + 1 ml + 0,5 ml	F1 + 1 ml + 0,5 ml	F2 + 1 ml + 0,5 ml	F3 + 1 ml + 0,5 ml	2 ml H ₂ O	6+3+2	AM 7% + CLX 2%	2	13
		9	SX + 1 ml + 0,5 ml	S1 + 1 ml + 0,5 ml	S2 + 1 ml + 0,5 ml	F1 + 1 ml + 0,5 ml	F2 + 1 ml + 0,5 ml	F3 + 1 ml + 0,5 ml	2 ml H ₂ O	6+3+2	AM 7% + CTR 0,2%+ CLX 2%	2	13
SS	0,9%	10	SX + 1 ml	S1 + 1 ml	S2 + 1 ml	F1 + 1 ml	F2 + 1 ml	F3 + 1 ml	2 ml H ₂ O	6+5	SS 0,9%	2	13

NaOCl: hipoclorito de sodio; AM: ácido maleico; CTR: cetrimida; CLX: clorhexidina; SS: solución salina; H₂O: agua destilada; SX, S1, S2, F1, F2, F3: limas del Sistema ProTaper®; B/C: irrigación alternada; Vol: volumen; ml: mililitros.

RECOGIDA DE LA MUESTRA MICROBIOLÓGICA FINAL

Para evaluar la efectividad a corto plazo de los protocolos de desinfección, se procedió a tomar una segunda muestra microbiológica justo después de la instrumentación y siguiendo, en todo momento, la misma metodología que en la toma de la muestra basal.

EVALUACIÓN DEL RECRECIMIENTO BACTERIANO

En los grupos experimentales del 1 al 9 no fue posible aislar ninguna bacteria justo después de la instrumentación e irrigación final. Para determinar si persisten en los túbulos dentinarios bacterias a las cuales no se ha podido acceder en la toma de muestra o bien bacterias en estado viable pero no cultivable debido al tratamiento, se procedió a realizar un seguimiento durante 60 días (Figuras 3.9-3.11) de todos los especímenes de los grupos 1 al 9 para evaluar la eficacia a largo plazo.

Los conductos radiculares se llenaron con BHI (Figura 3.12) y se insertó en su interior una punta de papel estéril del nº 20 procediéndose a su incubación a 37°C durante 24 horas.

Pasado este tiempo, la punta de papel se extrajo, se colocó en un tubo con caldo BHI y se incubó a 37°C 24 horas. La aparición de turbidez se registró para cada espécimen como un indicador del crecimiento de bacterias. Cada muestra de caldo turbio se sembró en placas de agar sangre para confirmar y asegurar la presencia de *E. faecalis*.

En esta fase experimental, se procedió a determinar el tiempo, en días, en el que se podía evidenciar el recrecimiento de *E. faecalis*, en el caso de que esta bacteria hubiera sobrevivido al tratamiento.



Figura 3.9–3.11. Evaluación del recrecimiento bacteriano.

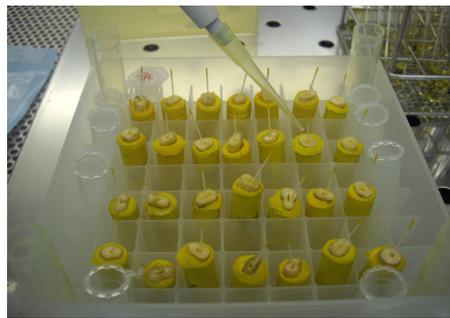


Figura 3.12. Llenado con BHI de los conductos radiculares.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para comparar los recuentos basales (variables de tipo Poisson) entre los grupos, los datos se sometieron a una transformación normalizadora: $\sqrt{(\text{recuentos basales} + 3/8)}$. Las comparaciones se realizaron mediante un ANOVA.

El comportamiento de los grupos teniendo en cuenta todo el periodo de seguimiento se evaluó usando el análisis no paramétrico de supervivencia de Kaplan Meier. Se considera que un espécimen sobrevive cuando no se evidencia

recrecimiento de *E. faecalis* en un tiempo dado. Las diferencias de supervivencia entre los grupos fueron analizadas utilizando el test del logaritmo de los rangos.

Los datos obtenidos en este estudio se analizaron en el programa estadístico SPSS/PC + (SPSS Inc, Chicago, IL) versión 20.0 (licencia de la Universidad de Granada). El nivel de significación fue $\alpha=0,05$.



RESULTADOS

En la exposición de los resultados, éstos se han clasificado a corto y largo plazo. En el estudio a corto plazo se determinó el nivel de infección justo antes y después de la instrumentación e irrigación con los protocolos finales ensayados. A largo plazo, se evaluó el tiempo en el cual se producía el recrecimiento bacteriano. En ambos casos, los resultados se han clasificado en función del protocolo de irrigación durante la instrumentación. Este se ha realizado sólo con NaOCl al 2,5% (A), NaOCl al 2,5% alternado con AM al 7% (B) y con NaOCl al 2,5% alternado con AM al 7% + CTR al 0,2% (C). Para una mejor comprensión de los resultados las tablas se han diseñado separando el protocolo A, de los protocolos B y C.

4.1. EFICACIA DE LAS SOLUCIONES IRRIGADORAS A CORTO PLAZO

Después del periodo de infección de los conductos radiculares y antes de la instrumentación, se procedió a determinar el nivel de contaminación bacteriana de todos los grupos experimentales y del grupo control. La misma evaluación se realizó después de la instrumentación e irrigación final. Los resultados se expresaron como UFCs. La comparación entre grupos mostró que, antes de la instrumentación, no había diferencias significativas entre ellos ($p=0,978$) de forma que la carga bacteriana era similar. Justo después de la preparación químico-mecánica de los especímenes, no hubo detección de *E. faecalis* en ninguno de los grupos experimentales (erradicación del 100% a corto plazo), salvo en el grupo control o solución salina al 0,90%, que exhibió crecimiento en todas sus muestras. En la Tabla 4.1 se recogen los resultados de los grupos irrigados con NaOCl (protocolo A) durante la instrumentación y en la Tabla 4.2 los resultados de los grupos irrigados con NaOCl alternado con AM y NaOCl alternado con AM + CTR (protocolos B y C, respectivamente).

Tabla 4.1. Grupos de estudio con irrigación convencional. Media \pm desviación estándar de los recuentos basales antes de la instrumentación y tras finalizarla (n=12/grupo).

Grupo	Irrigación durante la instrumentación	Irrigación final	Recuentos basales media \pm DS	Recuentos finales media \pm DS
1		NaOCl 2,5%	87.916,67 \pm 69.073,68 ^a	0
2		AM 7%	106.000 \pm 135.582,24 ^a	0
3	A NaOCl 2.5%	AM 7% + CTR 0,2%	119.000 \pm 156.100,20 ^a	0
4		AM 7% + CLX 2%	119.416,66 \pm 154.552,40 ^a	0
5		AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%	93.166,66 \pm 84.186,84 ^a	0
10	Control SS 0,9%	SS 0,9%.	89.166,66 \pm 76.218,38 ^a	4,58 \pm 7,86

NaOCl: hipoclorito de sodio. AM: ácido maleico; CTR: cetrimida; CLX: clorhexidina; SS: Solución salina; A: irrigación convencional.

La misma letra en superíndice muestra que no hay diferencias entre grupos determinado mediante un ANOVA y sometiendo previamente a los datos a una normalización de Poisson: $\sqrt{(\text{basal data} + 3/8)}$ ($p=0,978$).

Tabla 4.2. Grupos de estudio con irrigación alternada. Media \pm desviación estándar de los recuentos basales antes de la instrumentación y tras finalizarla (n=12/grupo).

Grupo	Irrigación durante la instrumentación	Irrigación final	Recuentos basales media \pm DS	Recuentos finales media \pm DS
6	B	AM 7% + CLX 2%	72.833,33 \pm 78.299,92 ^a	0
7	NaOCl 2,5% alternado con AM 7%	AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%	67.166,66 \pm 52.961,10 ^a	0
8	C	AM 7% + CLX 2%	100.333,33 \pm 86.868,06 ^a	0
9	NaOCl 2,5% alternado con AM 7% + CTR 0,2%	AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%	66.083,33 \pm 62.780,22 ^a	0
10	Control SS 0,9%	SS 0,9%	89.166,66 \pm 76.218,38 ^a	4,58 \pm 7,86

NaOCl: hipoclorito de sodio; AM: ácido maleico; CTR: cetrimida; CLX: clorhexidina; SS: solución salina; B/C: irrigación alternada.

La misma letra en superíndice muestra que no hay diferencias entre grupos determinado con un ANOVA y sometiendo previamente a los datos a una normalización de Poisson: $\sqrt{(\text{basal data} + 3/8)}$ ($p=0,978$).

4.2. EFICACIA DE LAS SOLUCIONES IRRIGADORAS A LARGO PLAZO

Todos los controles negativos se mantuvieron sin crecimiento bacteriano durante todo el periodo de estudio (60 días).

En los resultados a largo plazo, se ha determinado sólo el día en el que se evidenció crecimiento bacteriano determinado mediante turbidez y confirmado con cultivo en medio BHI. Una vez identificado el cultivo como positivo no se procedió a realizar recuento de bacterias. Los resultados se han expuesto de dos formas. En primer lugar, por periodos concretos de tiempo y a continuación, se realizó un análisis de supervivencia que evalúa el comportamiento de los recrecimientos bacterianos teniendo en cuenta todo el periodo de seguimiento y no un momento temporal concreto.

En la Tabla 4.3 se exponen el número y porcentaje de especímenes sin recrecimiento de *E. faecalis* en diferentes periodos de tiempo en los grupos en los que se utilizó régimen de irrigación convencional con NaOCl al 2,5% durante la instrumentación (**A**). En el grupo 1 en el cual se utilizó sólo NaOCl como irrigación final, al décimo día 9 de 12 especímenes ya mostraron recrecimiento y en el día 30 todos habían recrecido. En los grupos 4 y 5 (AM + CLX y AM + CTR + CLX) sin embargo, en el día 30 sólo habían recrecido 3 y 4 especímenes respectivamente y al final del periodo de seguimiento quedaban en ambos grupos 7 especímenes sin recrecer.

En la Tabla 4.4 se recoge el número y porcentaje de especímenes sin recrecimiento de *E. faecalis* en diferentes periodos de tiempo en los grupos en los que se utilizó régimen de irrigación alternada durante la instrumentación (**B** y **C**). En el día 30 no había recrecido ningún espécimen en ninguno de los grupos. En el día 60 la mayoría de los especímenes permanecían sin recrecimiento bacteriano en todos los grupos.

Tabla 4.3. Protocolos de irrigación final. Número y porcentaje de especímenes sin recrecimiento de *E. faecalis* en diferentes periodos de tiempo utilizando régimen de irrigación convencional (A) (muestra inicial n=12/grupo).

Protocolos de irrigación		Tiempo evaluado (días)*													
		5		10		15		30		45		60			
Irrigación convencional	Soluciones irrigadoras finales	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
	Grupo 1	NaOCl 2,5%	10	83,4	3	25	3	25	0	0	0	0	0	0	
	Grupo 2	AM 7%	11	99,7	8	66,8	6	50	5	41,66	4	33,33	1	8,33	
	A	Grupo 3	AM 7% + CTR 0,2%	11	100	7	58,33	7	58,33	5	41,66	5	41,66	5	41,66
	Grupo 4	AM 7% + CLX 2%	12	100	12	100	12	100	9	72,1	8	66,8	7	58,33	
	Grupo 5	AM7%+CTR0,2%+CLX2%	12	100	11	99,7	10	83,4	8	66,8	7	58,33	7	58,33	

NaOCl: hipoclorito de sodio; AM: ácido maleico; CTR: cetrimida; CLX: clorhexidina.

Soluciones irrigadoras durante la instrumentación: A: NaOCl al 2,5%.

*El recrecimiento fue evaluado diariamente.

Tabla 4.4. Protocolos de irrigación final. Número y porcentaje de especímenes sin recrecimiento de *E. faecalis* en diferentes periodos de tiempo utilizando régimen de irrigación alternado **B** y **C** (muestra inicial n=12/grupo).

Protocolos de irrigación		Tiempo evaluado (días)*											
		5		10		15		30		45		60	
Irrigación alternada	Soluciones irrigadoras finales	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
		B	Grupo6 AM 7% + CHX 2%	12	100	12	100	12	100	12	100	11	99.7
Grupo7 AM 7% + CTR 0,2% + CHX 2%	12		100	12	100	12	100	12	100	12	100	11	99.7
C	Grupo8 AM 7% + CHX 2%	12	100	12	100	12	100	12	100	11	99.7	10	83.4
	Grupo9 AM 7% + CTR 0,2% + CHX 2%	12	100	12	100	12	100	12	100	11	99.7	11	99.7

NaOCl: hipoclorito de sodio; AM: ácido maleico; CTR: cetrimida; CLX: clorhexidina.

Soluciones irrigadoras durante la instrumentación: B: NaOCl 2,5% alternado con AM 7%; C: NaOCl 2,5% alternado con AM 7% + CTR 0,2%.

*El recrecimiento fue evaluado diariamente.

En las Tablas 4.5 y 4.6 se exponen los resultados del estudio de supervivencia, incluyendo el número total de especímenes que mostraron crecimiento, el día mínimo y máximo y la mediana. El valor de p de las comparaciones dos a dos entre todos los grupos, determinadas por el test del logaritmo de los rangos, se exponen en la Tabla 4.7.

Aunque la Tabla 4.5 recoge los protocolos finales de los grupos con irrigación convencional durante la instrumentación (A) y la Tabla 4.6 los protocolos alternados (B y C), para un mayor enriquecimiento de los resultados, se han comparado todos los grupos entre sí con independencia del protocolo de irrigación utilizado durante la instrumentación. En una lectura global de ambas tablas, la misma letra en superíndice muestra que no hay diferencias entre grupos.

En los grupos con protocolo de irrigación convencional durante la instrumentación, la supervivencia del grupo NaOCl (grupo 1) fue la más baja con diferencias significativas, determinadas por el test del logaritmo de los rangos, respecto a todos los grupos restantes. El día 20, todos sus especímenes mostraron recrecimiento de *E. faecalis*. Le siguen los grupos irrigados con AM sólo (grupo 2) y AM + CTR (grupo 3). Aunque sin diferencias significativas entre ambos grupos, al final del periodo de seguimiento 11 especímenes habían crecido en el grupo AM frente a 7 en el grupo AM + CTR. La evolución global en estos 3 grupos se puede apreciar en la Figura 4.1.

La asociación de AM al 7% con: CLX al 2% (grupo 4) y CTR al 0,2% + CLX al 2% (grupo 5) como soluciones finales en un régimen de irrigación convencional, mostró excelentes resultados, con un número muy reducido de muestras con recrecimiento a los 60 días (5 y 4, respectivamente), sin diferencias significativas entre ambos grupos (Tabla 4.5 y Figura 4.2).

En los dos regímenes con irrigación alternada, el menor número de especímenes con recrecimiento ($n=1$) se produjo en los grupos 7 y 9 cuando la irrigación final fue una solución combinada de AM al 7 % + CTR al 0,2 % + CLX al 2 % (Tabla 4.6). La evolución global de los dos protocolos de irrigación alternada; NaOCl seguido de AM y NaOCl seguido de AM + CTR se puede apreciar en las Figuras 4.3 y 4.4, respectivamente.

Las comparaciones entre todos los grupos muestran que, cuando la irrigación final se hizo con la asociación de AM + CLX y AM + CTR + CLX, no hay diferencias significativas entre ellos, con independencia del protocolo de irrigación utilizado durante la instrumentación: grupos 4 y 5 (A), 6 y 7 (B) y 8 y 9 (C). Estas combinaciones obtuvieron excelentes resultados con un número de especímenes recrecidos muy reducido a los 60 días (entre 1 y 5 especímenes de un total de 12) (Tabla 4.5–4.6).

Tabla 4.5. Especímenes crecidos en los grupos de estudio con irrigación convencional con NaOCl al 2,5% (A). Mediana del día de recrecimiento ($n=12$ /grupo).

Protocolos de irrigación					
Grupo	Irrigación final	Especímenes crecidos (n)	Valor más bajo (días)	Valor más alto (días)	Mediana
1	NaOCl 2,5% ^a	12	3	20	8
2	AM 7% ^b	11	5	>60	17,5
3	AM 7% + CTR 0,2% ^{b, c}	7	5	>60	23,5
4	AM 7% + CLX 2% ^{c, d}	5	24	>60	>60
5	AM 7%+CTR 0,2% + CLX 2% ^{c, d}	4	9	>60	>60

La misma letra en superíndice muestra que no hay diferencias entre grupos determinado por el test del logaritmo de los rangos ($p<0.05$).

Grupo control de irrigación con solución salina 0,9%. Todas las muestras crecieron el día 1.

Tabla 4.6. Especímenes crecidos en los grupos de estudio con irrigación alternada con NaOCl 2.5% alternado con AM 7% (B) o NaOCl 2.5% alternado con AM 7% +CTR 0,2% (C). Mediana del día de recrecimiento (n=12/grupo).

Protocolos de irrigación					
Grupo	Irrigación final	Especímenes crecidos (n)	Valor más bajo (días)	Valor más alto (días)	Mediana
B	6 AM7% + CLX2% ^{cd}	4	43	>60	>60
	7 AM7% + CTR0,2% + CLX2%	1	56	>60	>60
C	8 AM7% + CLX2% ^d	2	35	>60	>60
	9 AM7% + CTR0,2% + CLX2% ^d	1	43	>60	>60

La misma letra en superíndice muestra que no hay diferencias entre grupos determinado por el test del logaritmo de los rangos ($p < 0,05$).

Grupo control de irrigación con solución salina 0,9%. Todas las muestras crecieron el día 1.

Tabla 4.7. Comparaciones entre grupos. Valor de p determinado por el test del logaritmo de los rangos.

Grupos	Valores de p								
	1								
1	-	2							
2	0,15	-	3						
3	0,010	0,247	-	4					
4	0,000	0,005	0,193	-	5				
5	0,000	0,005	0,157	0,928	-	6			
6	0,000	0,000	0,087	0,498	0,774	-	7		
7	0,000	0,000	0,007	0,051	0,117	0,129	-	8	
8	0,000	0,000	0,018	0,143	0,278	0,378	0,547	-	9
9	0,000	0,000	0,007	0,057	0,117	0,155	0,975	0,547	-

Figura 4.1. Gráfico de supervivencia a 60 días del protocolo de irrigación convencional con NaOCl al 2,5% durante la instrumentación (A): grupos 1, 2, 3.

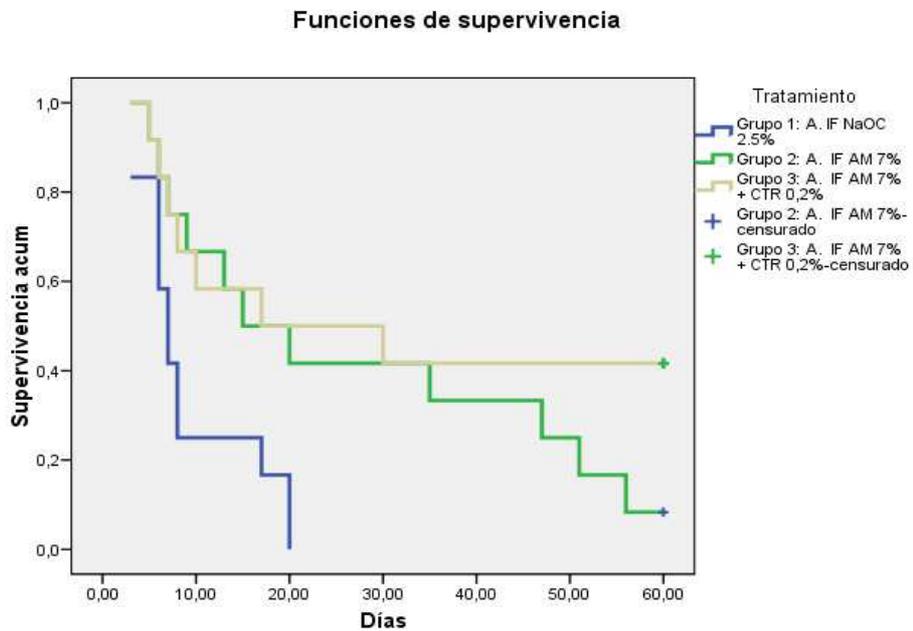
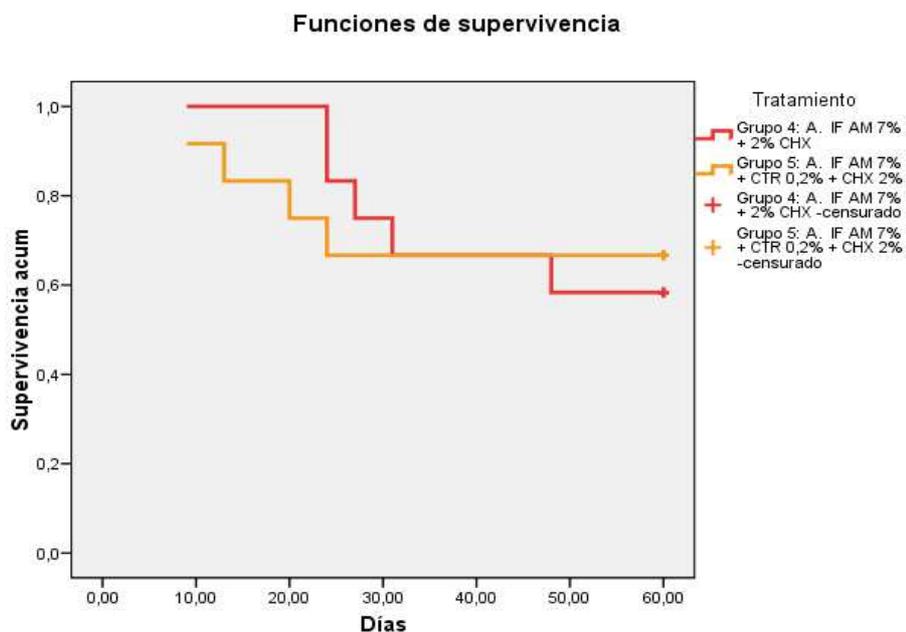


Figura 4.2. Gráfico de supervivencia a 60 días del protocolo de irrigación convencional con NaOCl al 2,5% durante la instrumentación (A): grupos 4, 5.



NaOCl: hipoclorito de sodio; AM: ácido maleico; CTR: cetrimida; CLX: clorhexidina.

Figura 4.3. Gráfico de supervivencia a 60 días del protocolo de irrigación alternada con NaOCl al 2,5% y AM al 7% durante la instrumentación (B): grupos 6 y 7.

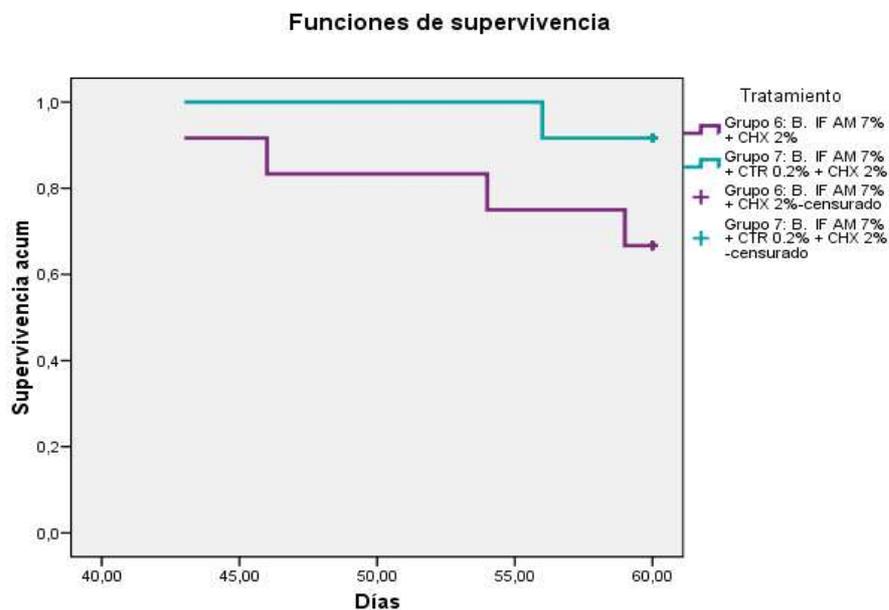
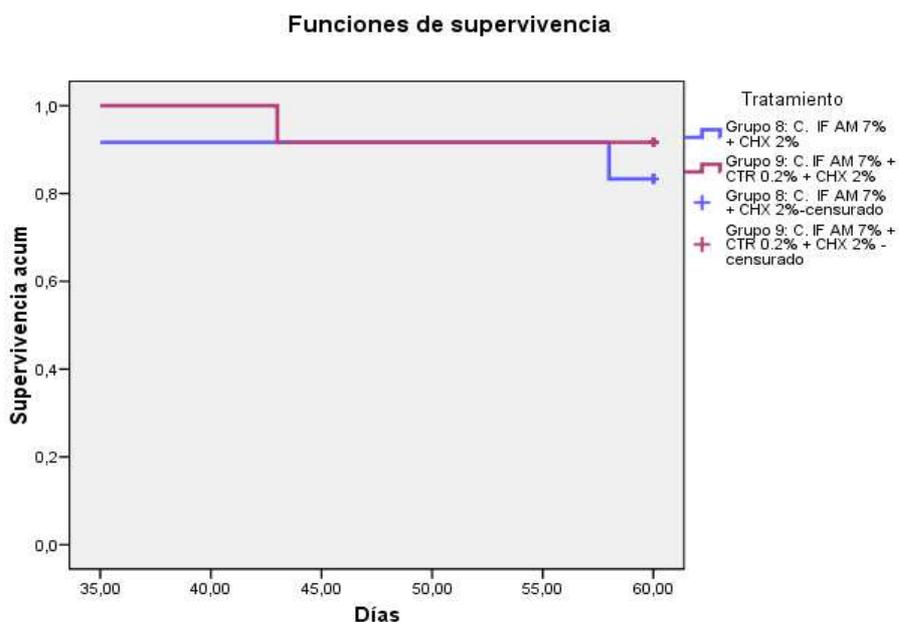


Figura 4.3. Gráfico de supervivencia a 60 días del protocolo de irrigación alternada con NaOCl al 2,5% y AM al 7% + CTR al 0,2% durante la instrumentación (C): grupos 8 y 9.



AM: ácido maleico; CRT: cetrimide; CLX: clorhexidina.



DISCUSIÓN

El tratamiento de endodoncia pretende eliminar el barrillo dentinario y, en la medida de lo posible, los microorganismos que se localizan en el complejo sistema de conductos radiculares^{211,212}. El objetivo ideal sería lograr la erradicación o total eliminación; sin embargo, alcanzar este propósito es prácticamente imposible. Por tanto, el objetivo clínico es conseguir reducir al máximo la carga bacteriana de forma que sea compatible con el éxito de la terapia endodóntica, minimizando así la posibilidad de recontaminación o reinfección bacteriana. La desinfección de conductos radiculares es un factor fundamental y ha sido el motor que ha conducido a investigar el efecto de diferentes combinaciones de soluciones irrigadoras en los conductos radiculares infectados^{213,214,215}.

Para obtener un óptimo resultado, el tratamiento endodóntico combina eliminación física y química. La primera de ellas se lleva a cabo mediante el limado del conducto y el arrastre mecánico de las soluciones irrigadoras. Sólo con este protocolo, utilizando como solución agua destilada o solución salina, se consigue una reducción de bacterias muy importante pero insuficiente²¹⁶. Las soluciones deben ser activas, precisamente a lo que se refiere el término química, y esa actividad se centra en dos funciones fundamentales: la eliminación del barrillo dentinario y el control de la infección²¹⁷. El barrillo dentinario está

²¹¹ Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Orstavik D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. J Endod. 2005;31:863–6.

²¹² 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.

²¹³ 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.

²¹⁴ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. J Endod. 2011;37:1121-3.

²¹⁵ Ferrer-Luque CM, Arias Moliz MT, González-Rodríguez MP, Baca P. Antimicrobial activity of maleic acid and combinations of cetrimide with chelating agents against *Enterococcus faecalis* biofilm J Endod. 2010; 36: 1673-5.

²¹⁶ Harrison JW. Irrigation of the root canal system. Dent Clin North Am. 1984;28:797-808.

²¹⁷ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389–98. Review.

formado por componentes orgánicos e inorgánicos y la infección está provocada por bacterias, de composición claramente orgánica²¹⁸. Las soluciones irrigadoras utilizadas deben tener capacidad tanto para eliminar la parte orgánica, lo que generalmente se realiza con NaOCl, como el componente inorgánico, para lo que se utilizan agentes quelantes del calcio²¹⁹.

Los protocolos convencionales, precisamente, combinan el uso de NaOCl y EDTA como agente quelante²²⁰. Más recientemente, se aconseja utilizar como solución irrigadora final agentes antimicrobianos que tengan acción a largo plazo, ya que NaOCl, si bien es un bactericida muy eficaz, no tiene acción residual^{221,222}. Ese efecto de sustantividad, permitiría un control de la infección más prolongado²²³. Por otra parte, aunque EDTA es un quelante eficaz, su actividad antimicrobiana es muy limitada, por no decir nula²²⁴ y sería deseable, conseguir soluciones irrigadoras que tuvieran ambas propiedades: quelantes y antibacterianas. Este estudio se realizó para evaluar la actividad antimicrobiana a corto y largo plazo de diferentes soluciones irrigadoras durante la preparación del conducto radicular, utilizando distintos protocolos de irrigación final con ácido maleico al 7% solo, combinado con clorhexidina al 2%, combinado con cetrimida al 0,2%, o con ambas soluciones, en conductos radiculares infectados con *E. faecalis*.

²¹⁸ Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. Arch Oral Biol. 1988;33:265-70.

²¹⁹ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389-98. Review.

²²⁰ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389-98. Review.

²²¹ 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.

²²² Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. J Endod. 2011;37:1121-3.

²²³ Mohammadi Z, Abbott PV. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: a review. Aust Endod J. 2009;35:131-9.

²²⁴ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35:711-4.

5.1. VALIDEZ INTERNA DEL ESTUDIO

De forma global, la metodología utilizada podría denominarse *ex vivo*, término que está a caballo entre *in vivo* e *in vitro*. Utiliza dientes naturales extraídos, lo que tiene una doble ventaja. Por una parte, permite simular una situación clínica pero además, permite llevar a cabo un método reproducible ya que se minimizan las variables que puedan influir en los resultados del estudio.

El empleo de dientes humanos extraídos es una metodología muy extendida y ampliamente aceptada para evaluar la eficacia de soluciones irrigadoras frente a biopelículas de *E. faecalis*^{225,226,227}. En esta investigación se utilizaron dientes humanos unirradiculares, excluyendo aquellos que presentaban caries, reabsorciones radiculares o ápices abiertos. Además, se eliminó la corona de los dientes, dejando una longitud radicular de 12 mm²²⁸ y la longitud de trabajo se determinó restando 1mm cuando la lima era visible a nivel del foramen apical, ya que éste es el límite recomendado por la mayoría de investigadores²²⁹.

El microorganismo seleccionado en este estudio para producir las biopelículas fue *E. faecalis*, una bacteria anaerobia facultativa Gram positiva muy utilizada en estudios experimentales²³⁰, ya que se aísla con frecuencia en conductos radiculares necróticos²³¹ o en infecciones persistentes de conductos radiculares

²²⁵ Kamberi B, Bajrami D, Stavileci M, Omeragig S, Dragidella F, *et al.* The Antibacterial Efficacy of Biopure MTAD in Root Canal Contaminated with *Enterococcus faecalis*. ISRN Dent. 2012;2012:390526.

²²⁶ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. J Endod. 2011;37:1121-3.

²²⁷ Soares JA, Roque de Carvalho MA, Cunha Santos SM, Mendonça RM, Ribeiro-Sobrinho AP. Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of sodium hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2010;36:894-8.

²²⁸ Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, Ruiz-Linares M, Martínez-García ME, Baca P. Residual activity of cetrimide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. Int J Oral Sci. 2014;6:46-9.

²²⁹ Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. J Endod. 1979;5:83-90.

²³⁰ Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res. 1987;66:1375-9.

²³¹ Subramanian K, Mickel AK. Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. J Endod. 2009;35:950-7.

tratados endodónticamente^{232,233}. Además, tiene la capacidad de colonizar los túbulos dentinarios penetrando a una profundidad de 1000 µm en 21 días²³⁴, lo que dificulta su completa eliminación. Por otra parte, *E. faecalis* puede crecer en forma de biopelícula, incluso en situaciones en las que los nutrientes son escasos²³⁵, lo que aumenta su resistencia en las paredes del conducto radicular²³⁶. En este trabajo de investigación se seleccionó la cepa CECT 795 (denominación internacional ATCC 29212) por ser la cepa de referencia utilizada en la mayoría de los trabajos publicados^{237,238,239,240,241,242}. Después de inocularla, los especímenes se incubaron en una estufa durante 4 semanas a 37°C ya que es el tiempo necesario para que las bacterias penetren en los túbulos dentinarios²⁴³. Su permanencia y viabilidad se consiguió realizando reinoculaciones cada 7 días²⁴⁴.

La toma de la muestra microbiológica basal se realizó utilizando 3 puntas de papel estériles impregnadas con caldo de BHI durante 20 segundos cada una. Sin embargo, la toma de la muestra con puntas de papel tiene limitaciones, ya que sólo los microorganismos presentes en el conducto radicular pueden ser registrados,

²³² Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, *et al.* Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19:71-6.

²³³ Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod.* 2000;26:593-5.

²³⁴ Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987;66:1375-9.

²³⁵ George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2005; 31:867-72.

²³⁶ Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002;28:689-93.

²³⁷ Guerreiro-Tanomaru JM, Nascimento CA, Faria-Júnior NB, *et al.* Antibiofilm activity of irrigating solutions associated with cetrimide. Confocal laser scanning microscopy. *Int Endod J.* 2014;47:1056-63.

²³⁸ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, *et al.* Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. *Int Endod J.* 2013;46:217-24.

²³⁹ Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, Ruíz-Linares M, Martínez-García ME, Baca P. Residual activity of cetrimide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *Int J Oral Sci.* 2014;6:46-9.

²⁴⁰ 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.

²⁴¹ Mohammadi Z, Shahriari S. Residual antibacterial activity of chlorhexidine and MTAD in human root dentin *in vitro*. *J Oral Sci.* 2008;50:63-7.

²⁴² Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus O, *et al.* Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94:240-5.

²⁴³ Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987;66:1375-9.

²⁴⁴ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *J Endod.* 2011; 37:1121-3.

mientras que los situados en el interior de los túbulos dentinarios pueden pasar sin ser detectados^{245,246}. Por este motivo, previamente, se introdujo una lima manual K #15 en los conductos radiculares y se realizaron movimientos circunferenciales a lo largo de todo el conducto durante 30 segundos, permitiendo la exposición de la dentina infectada para poder realizar un muestreo más válido y fiable. De hecho, la toma de la muestra microbiológica basal reveló que la carga bacteriana era similar (Tablas 4.1 y 4.2), sin diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos experimentales y el grupo control. De haber partido de cargas diferentes, los resultados podrían estar sesgados.

El objetivo de la preparación mecánica del conducto radicular es lograr una conformación progresivamente cónica hacia el ápice para facilitar su limpieza sin crear ninguna complicación iatrogénica como la formación de escalones, perforaciones o la fractura de los instrumentos²⁴⁷. En este estudio se utilizó el sistema ProTaper[®] (Dentsply Maillefer) que es un sistema de instrumentación mecánica de níquel-titanio con rotación horaria continua y que tiene la ventaja de ser más rápido y proporcionar una conformación final más uniforme en comparación con la instrumentación manual²⁴⁸. Además, existen estudios^{249,250} que muestran su eficacia en la desinfección de conductos radiculares. Se

²⁴⁵ 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.

²⁴⁶ Alves FR, Siqueira JF Jr, Carmo FL, Santos AL, Peixoto RS, *et al.* Bacterial community profiling of cryogenically ground samples from the apical and coronal root segments of teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2009;35:486-92.

²⁴⁷ Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am.* 1974;18:269–96.

²⁴⁸ Priya NT, Chandrasekhar V, Anita S, Tummala M, Raj TB, Badami V, *et al.* "Dentinal microcracks after root canal preparation" a comparative evaluation with hand, rotary and reciprocating instrumentation. *J Clin Diagn Res.* 2014;8:ZC70-2.

²⁴⁹ 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: e105-10.

²⁵⁰ Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, *et al.* SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. *Int Endod J.* 2004;37:832-9.

emplearon 6 limas: 3 de conformación coronal (SX, S1 y S2) y 3 de acabado apical (F1, F2 y F3).

Conseguir mejores protocolos de irrigación, durante y al final de la preparación del conducto radicular es un objetivo fundamental. Por ello, en este estudio se han evaluado tres protocolos de irrigación durante la instrumentación con distintos protocolos de irrigación final.

Si tenemos en cuenta los protocolos durante la instrumentación, el más aceptado en la actualidad sería utilizar un antimicrobiano, NaOCl, y un quelante del calcio como puede ser EDTA, al final²⁵¹. Otro posible es la alternancia de ambos durante la instrumentación²⁵². De hecho, Soares y cols.²⁵³ sugirieron el uso alternado de NaOCl al 5,25 % y EDTA al 17 % para la preparación del conducto radicular, ya que los resultados obtenidos mostraban que dicha asociación permitía obtener túbulos dentinarios más limpios con mayor permeabilidad. En un intento de mejorar estos protocolos, se ha propuesto sustituir EDTA por otros quelantes como son el AC. Nakamura y cols.²⁵⁴ cuando alternaron NaOCl al 1% con AC al 15% obtuvieron resultados favorables. El uso alternado no debe confundirse con el uso asociado o combinado. De hecho, Zehnder y cols.²⁵⁵ informaron que la asociación de NaOCl con AC o EDTA disminuye, significativamente, la capacidad antimicrobiana de NaOCl.

²⁵¹ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389-98. Review.

²⁵² Rajasingham R, Ng YL, Knowles JC, Gulabivala K. The effect of sodium hypochlorite and ethylenediaminetetraacetic acid irrigation, individually and in alternation, on tooth surface strain. Int Endod J. 2010;43:31-40.

²⁵³ Soares JA, Roque de Carvalho MA, Cunha Santos SM, Mendonça RM, Ribeiro-Sobrinho AP. Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of sodium hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2010;36:894-8.

²⁵⁴ Nakamura VC, Cai S, Candeiro GT, Ferrari PH, Caldeira CL, *et al.* Ex vivo evaluation of the effects of several root canal preparation techniques and irrigation regimens on a mixed microbial infection. Int Endod J. 2013;46:217-24.

²⁵⁵ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389-98. Review.

Soluciones como EDTA, AC o AF han demostrado capacidad para eliminar el barrillo dentinario de los conductos radiculares instrumentados^{256,257}; sin embargo, no han mostrado eficacia en la erradicación de biopelículas de *E. faecalis*²⁵⁸. AM sólo y, mejor aún, combinado con CTR ha demostrado tanto capacidad para erradicar *in vitro* biopelículas de *E. faecalis*²⁵⁹ como actividad antimicrobiana residual frente a este microorganismo²⁶⁰. Además, una ventaja adicional de AM con respecto a EDTA es que no presenta ninguna interacción adversa con CLX²⁶¹, pudiendo incluso aumentar su potencial antimicrobiano²⁶². Por este motivo, en este estudio los grupos durante la instrumentación fueron: **A** o de irrigación sólo con NaOCl al 2,5%, lo que se podría considerar como un grupo control, **B** o irrigación alternada de NaOCl al 2,5% con AM al 7% y **C** cuando la irrigación alterna de NaOCl al 2,5%, además, combina CTR al 0,2% con el AM al 7%.

En relación a los protocolos de irrigación final, un estudio previo²⁶³ realizado por el mismo equipo de trabajo demostró que, utilizando NaOCl durante la instrumentación, la combinación de CTR con agentes quelantes como soluciones de irrigación final (EDTA, AM y AL) conseguía que se potenciases las propiedades antimicrobianas de ambos, recomendándose su uso en un régimen de irrigación alternado. Este trabajo de investigación, tiene como objetivo dar respuesta a algunos de los interrogantes planteados en ese trabajo, como es determinar la

²⁵⁶ Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389–98. Review.

²⁵⁷ Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. J Endod. 2006;32:993–7.

²⁵⁸ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35:711–4.

²⁵⁹ Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Baca P. Antimicrobial activity of maleic acid and combinations of cetrimide with chelating agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2010;36:1673–5.

²⁶⁰ 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.

²⁶¹ Ballal NV, Moorkoth S, Mala K, Bhat KS, Hussien SS, *et al.* Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod. 2011;37:1402–5.

²⁶² 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.

²⁶³ 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.

eficacia de asociar AM con CLX y AM con CTR y CLX como soluciones de irrigación final pero cuando se aplica un régimen alternado de NaOCl con AM y AM asociado a CTR.

Las soluciones finales se mantuvieron en los conductos 1 minuto ya que es el rango de tiempo recomendado para su uso clínico en el tratamiento de conductos radiculares²⁶⁴. También se estandarizó el volumen total (13 mL) de las soluciones utilizadas durante y después de la instrumentación.

5.2. EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS PROTOCOLOS ENSAYADOS A CORTO PLAZO

Justo después de la preparación químico-mecánica de los especímenes se realizó un nuevo recuento de la carga bacteriana final, con resultados muy diferentes entre el grupo control y los grupos experimentales. El grupo control o solución salina al 0,9% exhibió crecimiento en todas sus muestras mientras que en los grupos experimentales no fue posible aislar ninguna bacteria en ninguno de los grupos, lo cual se consideraría como erradicación o reducción del 100% a corto plazo.

Los resultados del grupo control son consistentes con los obtenidos en la literatura científica^{265,266}. La preparación de conductos radiculares con instrumentos rotatorios, utilizando una solución irrigadora sin actividad antimicrobiana como es la solución salina, consigue *per se* una reducción importante del número de bacterias que se atribuye a la acción mecánica de arrastre^{267,268}. En este estudio se pasó de una media basal de cerca de 90.000

²⁶⁴ Moon YM, Shon WJ, Baek SH, Bae KS, Kum KY, et al. Effect of final irrigation regimen on sealer penetration in curved root canals. J Endod. 2010;36:732-6.

²⁶⁵ Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, et al. Effectiveness of three instrumentation systems to remove *Enterococcus faecalis* from root canals. Int -8.

²⁶⁶ 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.

²⁶⁷ 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;47:380-6.

UFCs a menos de 5 UFCs justo después de la instrumentación, lo que equivale a un porcentaje de reducción del 99,99%. Sin embargo, y a diferencia de los grupos experimentales, ninguno de los especímenes irrigados con solución salina al 0,9% se encontró libre de bacterias, confirmando la necesidad de usar soluciones con actividad antimicrobiana en el tratamiento endodóntico²⁶⁹. Al positivarse todas las muestras el primer día, este grupo no fue factible de evaluación a largo plazo.

No se puede caer en el error de considerar que el hecho de no poder aislar ninguna bacteria a corto plazo en los grupos experimentales (erradicación al 100%) se pueda interpretar como erradicación a largo plazo o eliminación total de la bacteria. Por una parte, el sistema de conductos radiculares es anatómicamente muy complejo, con curvas y recovecos²⁷⁰; además, la histología dentinaria es rica en conductillos²⁷¹. Todo ello, constituye un sustrato complejo donde es muy fácil que las bacterias de las biopelículas queden atrapadas y protegidas frente a la instrumentación químico-mecánica^{272,273}; más aún, si se considera que la metodología incluye 4 semanas de infección y con acceso a un medio rico en nutrientes. Por otra parte, hay que tener en cuenta la propia idiosincrasia de las biopelículas, que las hace ser resistentes a los antimicrobianos²⁷⁴. En su interior, muchas bacterias quedan en estado de latencia o según la terminología

²⁶⁸ Machado ME, Nabeshima CK, Leonardo MF, Reis FA, Britto ML, *et al.* Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. *Int Endod J.* 2013;46:1083-7.

²⁶⁹ 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.

²⁷⁰ Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34:1291-301.

²⁷¹ Young GR, Parashos P, Messer HH. The principles of techniques for cleaning root canals. *Aust Dent J.* 2007;52:S52-63. Review.

²⁷² Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentine tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2008;41:873-82.

²⁷³ Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals *ex vivo*. *Int Endod J.* 2005;38:735-42.

²⁷⁴ Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet.* 2001;358:135-8. Review.

anglosajona como *viable but nonculturable state* (VBNCS)²⁷⁵. Vivas pero no son capaces de crecer en medios de cultivo por lo que necesitan un tiempo para recuperarse y poderse cultivar. Además, en dicho estado son especialmente resistentes a los antimicrobianos²⁷⁶. Teniendo en cuenta todo esto y ante una situación con resultados negativos en los cultivos, es obligado realizar un seguimiento para evaluar la eficacia de los protocolos en función del tiempo que se necesita para que las posibles bacterias residuales puedan, o bien dejar su estado de latencia, o recrecer hasta alcanzar niveles detectables por medios de cultivo. En este estudio el seguimiento fue de 60 días durante el cual se produjo aporte diario de nutrientes²⁷⁷. Este tiempo es lo suficientemente adecuado como para conseguir el recrecimiento, permitiendo además la comparación con otros estudios que han utilizado el mismo periodo^{278,279,280}. Por otra parte, prolongar el tiempo aumenta el riesgo de contaminación.

5.3. EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS PROTOCOLOS ENSAYADOS A LARGO PLAZO

Para facilitar la discusión de los resultados se ha diseñado la Tabla 5.1. En ella se incluyen los resultados de este estudio en cuanto al porcentaje de especímenes que mostraron recrecimiento al final del periodo de seguimiento de 60 días y los resultados de otros 3 trabajos que se han desarrollado por el mismo equipo de investigación donde se ha realizado esta Tesis Doctoral. Todo ello nos permite un

²⁷⁵ Oliver JD. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2010;34:415-25.

²⁷⁶ Lleò MM, Benedetti D, Tafi MC, Signoretto C, Canepari P. Inhibition of the resuscitation from the viable but non-culturable state in *Enterococcus faecalis*. *Environ Microbiol.* 2007;9:2313-20.

²⁷⁷ Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18:234-9

²⁷⁸ Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, Ruíz-Linares M, Martínez-García ME, Baca P. Residual activity of cetrимide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *Int J Oral Sci.* 2014;6:46-49.

²⁷⁹ Ferrer-Luque CM, Conde-Ortiz A, Arias-Moliz MT, Valderrama MJ, Baca P. Residual activity of chelating agents and their combinations with cetrимide on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2012;38:826-8.

²⁸⁰ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *J Endod.* 2011;37:1121-3.

análisis comparativo muy válido ya que se realizaron siguiendo la misma metodología.

En los protocolos de irrigación convencional durante la instrumentación (A) y desde una lectura global, los resultados del presente estudio ponen de manifiesto que, como irrigante final, todas las soluciones que utilizan AM tienen mayor actividad residual si se comparan con NaOCl al 2,5%. Nuestros resultados coinciden con estudios previos que informan que NaOCl tiene poca actividad antimicrobiana residual²⁸¹. En este grupo todos los especímenes habían mostrado recrecimiento el día 20. Esto puede explicarse porque su efecto antimicrobiano depende del cloro libre en la solución y su elevada tensión superficial²⁸², lo que impide su penetración en los túbulos dentinarios. Además, NaOCl puede ser inactivado por la capacidad de neutralización de la dentina²⁸³. Utilizando la misma metodología, Baca *et. al.* en 2011 demostraron que el uso de EDTA o AM antes de NaOCl no le confiere mayor efecto a largo plazo mostrando un 100% de especímenes recrecidos (Tabla 5.1).

En los protocolos del grupo A los resultados también demuestran que la incorporación de agentes antimicrobianos al AM potencia su actividad residual. Así, AM asociado a CTR mostró a los 60 días el número más bajo de especímenes recrecidos (7/12 versus 11/12 con AM solo), confirmando resultados previos obtenidos por Ferrer Luque *et. al.* en 2012 (Ref. 285).

²⁸¹ Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, Diener-West M, Johnson JD. 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.

²⁸² Mohammadi Z, Abbott PV. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: a review. *Aust Endod J.* 2009;35:131-9.

²⁸³ Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod.* 2007;33:917-25.

Tabla 5.1. Porcentaje de especímenes con recrecimiento en diferentes protocolos de irrigación final y que han utilizado la misma metodología.

Referencia	Metodología Común	Irrigación durante la instrumentación	Irrigación final	especímenes recrecidos %
Baca P y cols., 2011 ²⁸⁴	Raíces unirradiculares humanas infectadas 4S con EF (ATCC29212)	1 ml NaOCl 5,25% tras cada lima	EDTA17% - NaOCl 5,25%	100%
			MA 7% - NaOCl 5,25%	100%
			EDTA 17% - CLX2% + CTR ,2%	27,9%
			MA 7% - CLX 2% + CTR 0,2%	33,2%
Ferrer-Luque CM y cols. 2012 ²⁸⁵	Longitud radicular: 12 mm Longitud de trabajo: 11 mm	1 ml NaOCl 5,25% tras cada lima	EDTA 17%	80%
			EDTA17% + CTR 0,2%	33,3%
			AM 7%	73,4%
			AM 7% + CTR 0,2%	33,3%
Ferrer-Luque CM y cols. 2014 ²⁸⁶	Instrumentación: Protaper® hasta F3	1 ml NaOCl 5,25 % tras cada lima 5 ml EDTA 17%	AL 10%	80%
			AL 10% + CTR 0,2%	40%
			CTR 0,2%	69,23%
			CLX 0,2%	69,23%
Resultados del presente estudio	Soluciones finales: 5 ml / 1 min Toma de muestra diaria durante 60 días con puntas de papel	A 1 ml NaOCl 2,5% tras cada lima	NaOCl 2,5%	100%
			AM 7%	91,67%
			AM 7% + CTR 0,2%	58,34%
			AM 7% + CLX 2%	41,66%
			AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%	41,66%
			B 1 ml NaOCl 2,5 % alternado con 0,5 ml AM 7%	AM 7% + CLX 2%
	AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%	8,33%		
	Prueba positiva cuando se detecta crecimiento bacteriano	C 1 ml NaOCl 2,5% alternado con 0,5 ml AM 7% + CTR 0,2%	AM 7% + CLX 2%	16,66%
			AM 7% + CTR 0,2% + CLX 2%	8,33%

Tabla de elaboración propia.

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético, AM: ácido maeico; AL: ácido láctico; CTR: cetrimida; CLX; clohexidina; EF: *Enterococcus faecalis*; NaOCl: hipoclorito de sodio; mm: milímetros; min: minuto; ml: mililitos; S: semanas.

Por otra parte, los mejores resultados se obtuvieron con protocolos que combinaron AM al 7% asociado con CLX o CTR + CLX, los cuales mostraron una actividad antimicrobiana residual muy prolongada evidenciada por un menor

²⁸⁴ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. J Endod. 2011;37:1121-3.

²⁸⁵ 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.

²⁸⁶ Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, Ruíz-Linares M, Martínez-García ME, Baca P. Residual activity of cetrimide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. Int J Oral Sci. 2014;6:46-49.

porcentaje de especímenes recrecidos. Al final del periodo de seguimiento, en ningún caso las muestras crecidas alcanzaron el 50% (mediana >60). Estos resultados fueron, hasta cierto punto, los esperados debido a la sustantividad de las soluciones antimicrobianas²⁸⁷ y al hecho de que sólo se reduce ligeramente la disponibilidad de CLX al 2% cuando se combina con AM²⁸⁸. Además, el uso de CLX asociado a CTR obtiene mejores resultados frente a biopelículas de *E. faecalis* que la utilización de cada agente de forma independiente²⁸⁹.

En relación a los protocolos de los grupos **B** y **C** o protocolos alternados, durante la instrumentación, el presente estudio muestra que un régimen de NaOCl al 2,5% alternado con AM al 7% o AM al 7% + CTR al 0,2% es igual de efectivo en retrasar el recrecimiento de *E. faecalis* como NaOCl al 2,5% (**A**), pero solo en el caso de que el régimen de irrigación final sea AM + CLX o AM + CTR + CLX. Durante el tratamiento, diferentes soluciones irrigadoras pueden interaccionar entre ellas en el interior del sistema de conductos y de hecho, la interacción entre AM y NaOCl disminuye la actividad de este último²⁹⁰.

La eficaz desinfección mecánica debida al arrastre de los restos contaminados obtenidas en todos los protocolos (**A**, **B** y **C**) durante la preparación, la actividad antimicrobiana del AM al 7% y/o la mayor difusión de AM + CTR en un régimen alternado podrían ser las razones para explicar la eficacia obtenida con los 3 regímenes testados. Por otra parte, es razonable y lógico que la acción residual a largo plazo esté determinada más por la irrigación final que por las soluciones

²⁸⁷ Baca P, Junco P, Arias-Moliz MT, Castillo F, Rodríguez-Archilla A, Ferrer-Luque CM. Antimicrobial substantivity over time of chlorhexidine and cetrimide. J Endod. 2012;38:927-30.

²⁸⁸ Ballal NV, Moorkoth S, Mala K, Bhat KS, Hussien SS, *et al.* Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod. 2011;37:1402-5.

²⁸⁹ Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Valderrama MJ, Baca P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrimide and chlorhexidine. J Endod. 2010;36:87-90.

²⁹⁰ Ballal NV, Moorkoth S, Mala K, Bhat KS, Hussien SS, *et al.* Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod. 2011;37:1402-5.

utilizadas durante la instrumentación. En este sentido, la utilización de AM al 7% seguido de CTR al 0,2% + CLX al 2% como irrigante final consiguió una eficacia muy elevada impidiendo el recrecimiento de más de 70% de especímenes en 60 días²⁹¹ (Tabla 5.1).

Con independencia de los resultados de las comparaciones estadísticas, el menor número de muestras crecidas fue obtenido con los regímenes alternados (**B** y **C**) y utilizando como solución final la asociación de AM + CTR + CLX, lo cual indica un efecto sinérgico de las soluciones mezcladas

²⁹¹ Baca P, Mendoza-Llamas ML, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual effectiveness of final irrigation regimens on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. J Endod. 2011;37:1121-3.



CONCLUSIONES

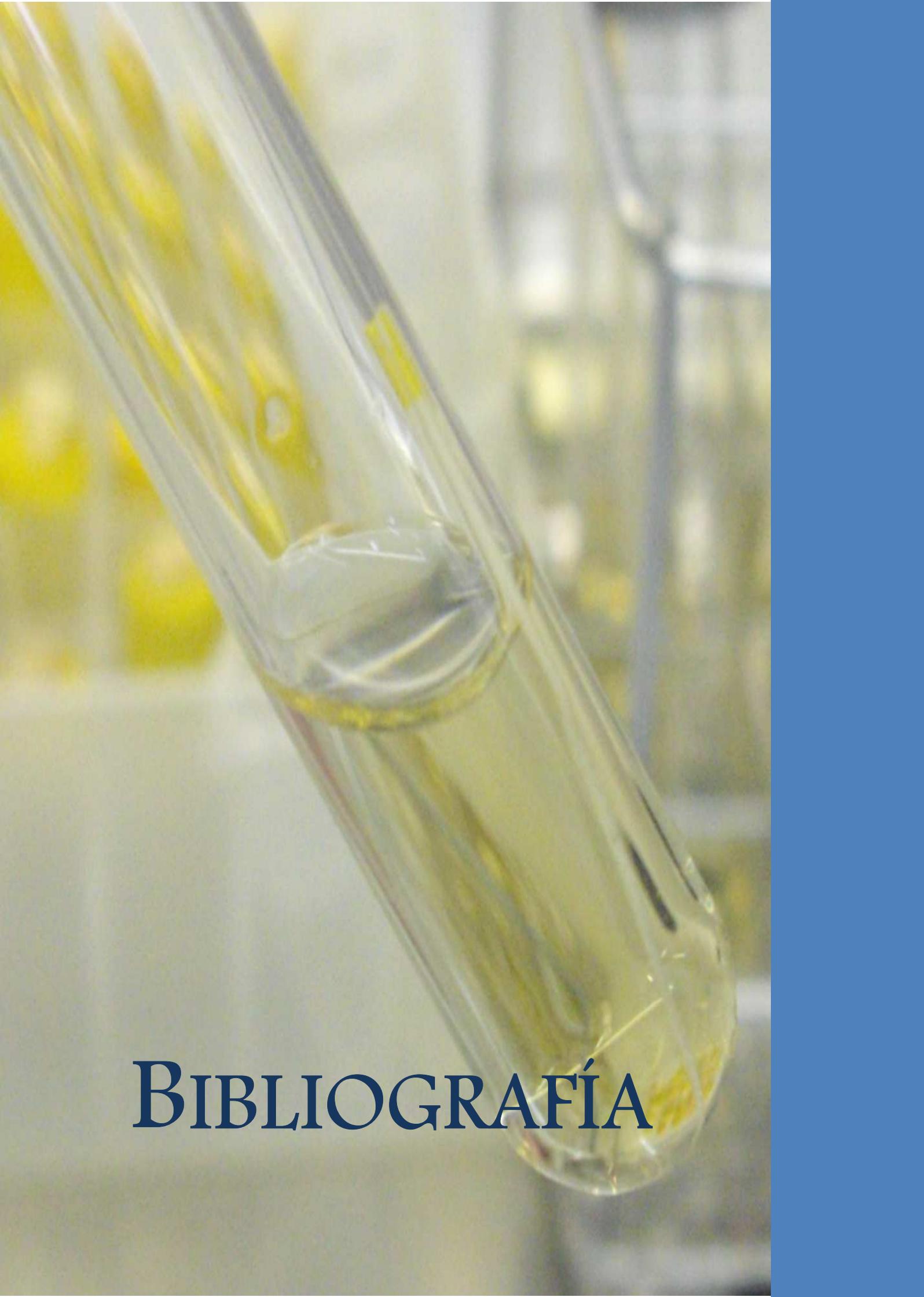
Una vez analizados los resultados obtenidos durante el desarrollo de esta investigación y la discusión de los mismos, se puede concluir que:

A CORTO PLAZO

1. Todas las soluciones de irrigación final, independientemente del régimen de irrigación utilizado durante la preparación, fueron igualmente eficaces en la desinfección de los conductos radiculares infectados con *E. faecalis* consiguiendo la erradicación.

A LARGO PLAZO

2. El régimen de irrigación alternado fue más eficaz que la irrigación convencional en la desinfección de los conductos radiculares infectados con *E. faecalis*
3. La asociación de AM + CLX y AM + CTR + CLX como irrigación final, independientemente del protocolo de irrigación utilizado durante la instrumentación, obtuvo los mejores resultados en la desinfección de conductos radicular, sin diferencias significativas entre ellos.



BIBLIOGRAFÍA

- Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. J Endod. 2005;31:30–6.
- Akisue E, Tomita V, Gavini G, Poli de Figueiredo JA. Effect of the combination of sodium hypochlorite and chlorhexidine on dentinal permeability and scanning electron microscopy precipitate observation. J Endod. 2010;36:847–50.
- Alves FR, Siqueira JF Jr, Carmo FL, Santos AL, Peixoto RS, *et al.* Bacterial community profiling of cryogenically ground samples from the apical and coronal root segments of teeth with apical periodontitis. J Endod. 2009;35:486-92.
- Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS. Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44:1818 –24.
- Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35:711-4.
- Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Rodríguez E, Liébana-Ureña J, Espigares-García M. Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;106:e84–9.
- Ates M, Akdeniz BG, Sen BH. The effect of calcium chelating or binding agents on *Candida albicans*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;100:626-30.
- Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. Aust Dent J. 2007; 52:S64–82. Review.
- Ayad MF. Effects of rotatory instrumentation and different etchants on removal of smear layer on human dentin. J Prosthet Dent. 2001;85:67-72.
- Baca P, Junco P, Arias-Moliz MT, Castillo F, Rodríguez-Archilla A, Ferrer-Luque CM. Antimicrobial substantivity over time of chlorhexidine and cetrinide. J Endod. 2012;38:927-30.
- Baca P, Junco P, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on *Enterococcus faecalis* biofilm in dentin. J Endod. 2011;37:363–6.

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

Ballal NV, Kandian S, Mala K, Bhat KS, Acharya S. Comparison of the efficacy of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid in smear layer removal from instrumented human root canal: a scanning electron microscopic study. J Endod. 2009;35:1573-6.

Ballal NV, Kundabala M, Bhat KS. A comparative evaluation of postobturation apical seal following intracanal irrigation with maleic acid and EDTA: a dye leakage under vacuum study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:e126-30.

Ballal NV, Kundabala M, Bhat S, Rao N, Rao BS. A comparative in vitro evaluation of cytotoxic effects of EDTA and maleic acid: root canal irrigants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108:633–8.

Ballal NV, Mala K, Bhat KS. Evaluation of decalcifying effect of maleic acid and EDTA on root canal dentin using energy dispersive spectrometer. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;112:e78-84.

Ballal NV, Moorkhot S, Mala K, Bhat KS, Hussen SS, *et al.* Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod 2011;37:1402–5.

Ballal NV, Rao BN, Mala K, Bhat KS, Rao BS. Assessment of genotoxic effect of maleic acid and EDTA: a comparative in vitro experimental study. Clin Oral Investig. 2013;17: 1319-27.

Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, *et al.* Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;94:240-5.

Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, *et al.* Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod 2007;33:966–9.

Baumgartner JC, Brown CM, Mader CL, Peters DD, Shulman JD. A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite, and citric acid. J Endod. 1984;10:525–31.

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

Baumgartner JC, Falkler WA Jr. Bacteria in the apical 5mm of infected root canals. *J Endod.* 1991;17: 380-3.

Baumgartner JC, Ibay AC. The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. *J Endod* 1987;13:47–51.

Bonten MJ, van Tiel FH, van der Geest S, Stobberingh EE, Gaillard CA. *Enterococcus faecalis* pneumonia complicating topical antimicrobial prophylaxis. *N. Engl. J. Med.* 1993; 21: 328:209-210.

Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *J Endod.* 2008;34:181-5.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 1955;34:849-53.

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.

Campanhã MT, Mamizuka EM, Carmona-Ribeiro AM. Interactions between cationic liposomes and bacteria: the physical-chemistry of the bactericidal action. *J Lipid Res.* 1999;40:1495–500.

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

Cloete TE, Jacobs L, Brözel VS. The chemical control of biofouling in industrial water systems. *Biodegradation.* 1998;9:23-37. Review.

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999;21;284:1318–22. Review.

Crane AB. A predictable root canal technique. Philadelphia: Lea & Febiger, 1920.

Dai L, Khechen K, Khan S, Gillen B, Loushine BA, *et al.* The effect of QMix, an experimental antibacterial root canal irrigant, on removal of canal wall smear layer and debris. *J Endod.* 2011;37:80-4.

Dakin HD. On the use of certain antiseptic substances in treatment of infected wounds. *Br Med J.* 1915;28:318 –20.

de Beer D, Stoodley P, Roe F, Lewandoski Z. Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. *Biotechnol Bioeng* 1994;43:1131–8.

Decho, A. Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. *Continental Shelf Research* 2000;20:1257-73.

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

Dogan H, Qalt S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. *J Endod.* 2001;27:578-80.

Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *CliniMicrobiol Rev.* 2002 15, 167-93. Review.

Doyle PW, Woodham JD. Evaluation of the microbiology of chronic ethmoid sinusitis. *J. Clin. Microbiol.* 1991;29:2396-400.

Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2006;32:527-31.

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

Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: *in vivo* study. *J Endod.* 2004;30:84–7.

Erickson RL. Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper Dent.* 1992;5(suppl):81–94. Review.

Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz. Dent. J.* 2002;13: 113-7.

Ferrer-Luque CM, Arias Moliz MT, González-Rodríguez MP, Baca P. Antimicrobial activity of maleic acid and combinations of cetrimide with chelating agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2010;36:1673-5.

Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, Ruíz-Linares M, Martínez-García ME, Baca P. Residual activity of cetrimide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. Int J Oral Sci. 2014;6:46-49.

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;47:380-6.

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.

Ferrer-Luque CM, González López S, Navajas Rodríguez de Mondelo JM. Mechanical instrumentation of the root canals. A study using SEM and computerized image analysis. Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol. 1996;39:111-7.

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

Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small understanding the endodontic microbial flora. Aust Dent J. 2007;52:S38-51.

Foschi F, Nucci C, Montebugnoli L, Marchionni S, Breschi L, *et al.* SEM evaluation of canal wall dentine following use of Mtwo and ProTaper NiTi rotary instruments. Int Endod J. 2004;37:832-9.

Frais S, Ng YL, Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. Int Endod J. 2001;34:206-15.

Garberoglio R, Becce C. Smear layer removal by root canal irrigants. A comparative scanning electron microscopic study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994;78:359-67.

George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2005; 31:867-72.

Georgopoulou M, Kontakiotis E, Nakou M. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid and sodium hypochlorite on the anaerobic flora of the infected root canal. *Int Endod J*. 1994;27:139-43.

Gerhardt CR, Eppendorf K, Kozlowski A, Brandt M. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. *Int Endod J*. 2004;37:272-80.

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.

Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia EA. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod*. 2007;33:852-5.

Goldberg F, Abramovich A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endod*. 1977;3:101-5.

Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira 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 BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, *et al*. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*. 2004;19:71-6.

González-López S, Cornejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolaños-Carmona V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid, or 17% EDTA. *J Endod*. 2006;32:781-4.

Goodman SD, Oberfell KP, Jurcisek JA, Novotny LA, Downey JS, *et al*. Biofilms can be dispersed by focusing the immune system on a common family of bacterial nucleoid-associated proteins. *Mucosal Immunol* 2011;4:625-37.

Goracci G, Mori G, Bazzucchi M. Marginal seal and biocompatibility of a fourth-generation bonding agent. *Dent Mater*. 1995;11:343-7.

Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine: An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986; 57:370-6. Review.

- Guerreiro-Tanomaru JM, Nascimento CA, Faria-Júnior NB, *et al.* Antibiofilm activity of irrigating solutions associated with cetrimide. Confocal laser scanning microscopy. *Int Endod J.* 2014;47:1056-63.
- Guibaud G, Tixier N, Bouju A, Baudu M. Relation between extracellular polymers' composition and its ability to complex Cd, Cu and Pb. *Chemosphere.* 2003;52:1701-10.
- Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Topics.* 2005;10:77–102.
- Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987;66:1375-9.
- Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod.* 2007;33:917–25.
- Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am.* 2010;54:291-312.
- Hancock HH 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91:579–86.
- Harrison JW. Irrigation of the root canal system. *Dent Clin North Am.* 1984;28:797-808.
- 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;36:75-85. Review.
- 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;113:70–6.
- Haznedaroglu F. Efficacy of various concentrations of citric acid at different pH values for smear layer removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96:340-4.
- Heard DD, Ashworth RW. The colloidal properties of chlorhexidine and its interaction with some macromolecules. *J Pharm Pharmacols.* 1968;20:505-12.

Hidalgo E, Bartolome R, Dominguez C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. *Chem Biol Interact.* 2002;139:265-82.

Hoppe HG. Microbial extracellular enzyme activity: a new key parameter in aquatic ecology. En: *Microbial Enzymes in Aquatics Environments.* Springer. Berlin;1991:60-83.

Horvitz RA, Von Graevenitz A. A clinical study of the role of enterococci as sole agents of wound and tissue infection. *Yale J. Biol. Med.* 1977;50:391-5.

Jeansonne 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.

Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of enterococci. *Clin Microbiol Rev.* 1994;7:462-78. Review.

Jiménez-Rubio A, Segura JJ, Llamas R, Jiménez-Planas A, Guerrero JM, Calvo JR. *In vitro* study of the effect of sodium hypochlorite and glutaraldehyde on substrate adherence capacity of macrophages. *J Endod.* 1997;23:562-4.

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;20:340-9.

Kamberi B, Bajrami D, Stavileci M, Omeragig S, Dragidella F, *et al.* The Antibacterial Efficacy of Biopure MTAD in Root Canal Contaminated with *Enterococcus faecalis*. *ISRN Dent.* 2012;2012:390526.

Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *J Endod.* 1979;5:83-90.

Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. *J Endod.* 2008;34:599-602.

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

Kügler R, Bouloussa O, Rondelez F. Evidence of a charge-density threshold for optimum efficiency of biocidal cationic surfaces. *Microbiology* 2005;151:1341-8.

- Lee W, Lim S, Son HH, Bae KS. Sonicated extract of *Enterococcus faecalis* induces irreversible cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. J Endod. 2004;30:209-12.
- Len SV, Hung YC, Chung D, Anderson JL, Erickson MC, *et al.* Effects of storage and pH on chlorine loss in Electrolyzed Oxidizing (EO) water. J Agric Food Chem. 2002;50:209–12.
- Lin LM, Di Fiore PM, Lin J, Rosenberg PA. Histological study of periradicular tissue responses to uninfected and infected devitalized pulps in dogs. J Endod. 2006;32:34–8.
- Liu H, Fang HH. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. J. Biotechnol 2002;95:249-56.
- Lleò MM, Benedetti D, Tafi MC, Signoretto C, Canepari P. Inhibition of the resuscitation from the viable but non-culturable state in *Enterococcus faecalis*. Environ Microbiol. 2007;9:2313-20.
- Ma J, Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. A new noninvasive model to study the effectiveness of dentin disinfection by using confocal laser scanning microscopy. J Endod. 2011;37:1380-5.
- Machado ME, Nabeshima CK, Leonardo MF, Reis FA, Britto ML, *et al.* Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. Int Endod J. 2013;46:1083-7.
- 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.
- Matos Neto M, Santos SS, Leão MV, Habitante SM, Rodrigues JR, *et al.* Effectiveness of three instrumentation systems to remove *Enterococcus faecalis* from root canals. Int -8.
- Merianos JJ. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. En: Block SS, ed. Disinfection, Sterilization, and Preservation. Philadelphia: Lea & Febiger; 199;225–62.
- Mohammadi Z, Abbott PV. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: a review. Aust Endod J. 2009;35:131–9.
- Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. Int Endod J. 2009; 42:288-302.

Mohammadi Z, Giardino L, Mombeinipour A. Antibacterial substantivity of a new antibiotic-based endodontic irrigation solution. *Aust Endod J.* 2012;38:26-30.

Mohammadi Z, Shahriari S. Residual antibacterial activity of chlorhexidine and MTAD in human root dentin in vitro. *J Oral Sci.* 2008;50:63-7.

Moon YM, Shon WJ, Baek SH, Bae KS, Kum KY, et al. Effect of final irrigation regimen on sealer penetration in curved root canals. *J Endod.* 2010;36:732-6.

Moreira DM, Almeida JF, Ferraz CC, Gomez BP, Line SR, et al. Structural análisis of bivine root dentin alter use of different endodontics auxiliary chemical substances. *J Endod.* 2009;35:1023-7.

Murray BE. The life and times of the Enterococcus. *Clin.Microbiol. Rev.* 1990;3:46-65. Review.

Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod.* 2004;30:785-7.

Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after 'one-visit' endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99:231-52.

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

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.

Oliver JD. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2010;34:415-25.

Onçağ O, Hoşgör M, Hilmioğlu S, Zekioğlu O, Eronat C, Burhanoğlu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J.* 2003;36:423-32.

Orstavik D. Time-course and risk analyses of the development and healing of chronic apical periodontitis in man. *Int Endod J.* 1996;29:150-5.

- Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. *Arch Oral Biol.* 1988;33:265-70.
- Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod.* 2000;26:593-5.
- Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González Rodríguez MP, Martín-Peinado FJ, González-López S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid, and 2.5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod J.* 2008;41:418-23.
- Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. *J Endod.* 2006;32:993-7.
- Persoon IF, Hoogenkamp MA, Bury A, Wesselink PR, Hartog AF, Wever R, Crielaard W. Effect of vanadium chloroperoxidase on *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2012;38:72-4.
- Piard JC, Desmazeaud M. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. I. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait.* 1992; 71:525-41.
- Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. *J Endod.* 2005;31:380-6.
- Potts M. Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiol Rev.* 1994;58:755-805. Review.
- Prabhu SG, Rahim N, Bhat KS, *et al.* Comparison of removal of endodontic smear layer using sodium hypochlorite, EDTA and different concentrations of maleic acid- a SEM study. *Endodontology* 2003;15:20-5.
- Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM, Pinto AC, Faria RB, Simão RA, Gomes BP. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: a chemical analysis. *J Endod.* 2013;39:505-10.
- Priya NT, Chandrasekhar V, Anita S, Tummala M, Raj TB, Badami V, *et al.* "Dentinal microcracks after root canal preparation" a comparative evaluation with hand, rotary and reciprocating instrumentation. *J Clin Diagn Res.* 2014;8:ZC70-2.

Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2004;37:438-46.

Rajasingham R, Ng YL, Knowles JC, Gulabivala K. The effect of sodium hypochlorite and ethylenediaminetetraacetic acid irrigation, individually and in alternation, on tooth surface strain. *Int Endod J*. 2010;43:31-40.

Rantz LA, Kirby W. Enterococcal infections: an evaluation of the importance of fecal streptococci and related organisms in the causation of human disease. *Arch. Intern. Med*. 1943;71:516-28.

Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. *J Endod*. 2008;34:1521-3.

Rôças IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF Jr. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J Endod* 2004;30:504–8.

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

Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004; 98:488–92.

Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Doğramacı EJ, *et al*. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. *Int Endod J*. 2011;44:792–9.

Russell AD, Chopra I, ed. Understanding antibacterial action and resistance. 2th Ed. New York; Ellis Horwood;1996.

Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:597–610. Review.

Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Orstavik D. The effects of dentine pretreatment on the adhesion of root canal sealer. *Int Endod J*. 2002;35:859–66.

Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am*. 1974;18:269 –96.

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

Sen BH, Akdeniz BG, Denizci AA. The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000;90:651-5.

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: e105-10.

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, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod*. 1998;24:414-6.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5% and 5.25% sodium hypochlorite. *J. Endodon*. 2000; 26:331-34.

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

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

Sirven F, Martín N, Tapia A, Barbero E. Importancia de la irrigación en el éxito del tratamiento de conductos radiculares necróticos. Parte 1. *Endodoncia* 2008;26,3:172-85.

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.

Soares JA, Roque de Carvalho MA, Cunha Santos SM, Mendonça RM, Ribeiro-Sobrinho AP, *et al*. Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of sodium

hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod 2010;36:894–8.

Spoering AL, Lewis K. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. J Bacteriol. 2001;183:6746–51.

Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An *in vitro* evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. Int Endod J. 2001;34:300–7.

Stevens SX, Jensen HG, Jett BD, Gilmore MS. A hemolysin-encoding plasmid contributes to bacterial virulence in experimental *Enterococcus faecalis* endophthalmitis. Invest. Ophthalmol. Vis Sci. 1992;33:1650-6.

Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet. 2001;358:135-8. Review.

Stojcic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. Int Endod J. 2012; 45:363-71.

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. Review.

Subramanian K, Mickel AK. Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. J Endod. 2009;35:950-7.

Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. Endod Topics. 2003;6: 3-28.

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

Surapipongpuntr P, Duangcharee W, Kwangsamai S, Ekka A. Effect of root canal irrigants on cervical dentine permeability to hydrogen peroxide. Int Endod J. 2008;41:821–7.

Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. Cell Mol Life Sci. 2003;60:2622-36. Review.

Thomas VC, Thurlow LR, Boyle D, Hancock LE. Regulation of autolysis-dependent extracellular DNA release by *Enterococcus faecalis* extracellular proteases influences biofilm development. J Bacteriol. 2008;190:5690–8.

- Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod.* 2003;29:233-9.
- Torabinejad M, Shabahang S, Apicco RM, Ketteering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an *in vitro* investigation. *J Endod.* 2003;29:400-3.
- Tresse O, Jouenne T, Junter GA. The role of oxygen limitation in the resistance of agar-entrapped, sessile-like *Escherichia coli* to aminoglycoside and beta-lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother.* 1995;36:521-6.
- Vieira DB, Carmona-Ribeiro AM. Cationic lipids and surfactants as antifungal agents: mode of action. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58:760-7.
- Vivacqua-Gomes N, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, *et al.* Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root filling. *Int Endod J.* 2002;35:791-5.
- Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Orstavik D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod.* 2005;31:863-6.
- Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, Diener-West M, Johnson JD. 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.
- Weine FS. Tratamiento endodónico. 5ta. Edición, Harcourt Brace. Madrid. 1997.
- Wieczowski G Jr, Yu XY, Davis EL, Joynt RB. Microleakage in various dentin bonding agent/composite resin systems. *Oper Dent.* 1992;5(suppl):62-7.
- Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2009;35:95-7.
- Young GR, Parashos P, Messer HH. The principles of techniques for cleaning root canals. *Aust Dent J.* 2007;52:S52-63. Review.
- Zamany A, Safavi K, Spangberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96:578-81.

Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, et al. Chelation in root canal reconsidered. J Endod 2005;31:817–20.

Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006;32:389-98. Review.

Zhang W, Torabinejad M, Li Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. J Endod. 2003;29:654-7.



**PRODUCCIÓN
CIENTÍFICA**