

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



**ELIMINACIÓN DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* MEDIANTE TRES SISTEMAS DE
ACTIVACIÓN DEL HIPOCLORITO DE SODIO A DIFERENTES
CONCENTRACIONES**

**TRABAJO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN
ENDODONCIA**

PRESENTA

C.D. BERNARDO NAVARRO ROBLES

PRESIDENTE

DIRECTOR DEL PROYECTO

DR. JULIO CÉSAR GARCÍA BRIONES

**SINODAL
CO-DIRECTOR DEL PROYECTO**

**SINODAL
CO-DIRECTORA DEL PROYECTO**

DR. HORACIO EUSEBIO ALMANZA REYES

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

**SINODAL
CO-DIRECTOR DEL PROYECTO**

M.O. SALVADOR OLIVARES RODRIGUEZ

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA

JUNIO 2019

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC a 19 de junio de 2019

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **ELIMINACIÓN DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* MEDIANTE TRES SISTEMAS DE ACTIVACIÓN DEL HIPOCLORITO DE SODIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES**

Propuesto por el **CD BERNARDO NAVARRO ROBLES**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E

**DR. JULIO CÉSAR GARCÍA BRIONES
PRESIDENTE
DIRECTOR DEL PROYECTO**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC a 19 de junio de 2019

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo **ELIMINACIÓN DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* MEDIANTE TRES SISTEMAS DE ACTIVACIÓN DEL HIPOCLORITO DE SODIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES**

Propuesto por el **CD BERNARDO NAVARRO ROBLES**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E

**DR. HORACIO EUSEBIO ALMANZA REYES
SINODAL
CO-DIRECTOR DEL PROYECTO**

Ccp.- Archivo.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, BC a 19 de junio de 2019

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **ELIMINACIÓN DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* MEDIANTE TRES SISTEMAS DE ACTIVACIÓN DEL HIPOCLORITO DE SODIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES**

Propuesto por el **CD BERNARDO NAVARRO ROBLES**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ
SINODAL
CO-DIRECTORA DEL PROYECTO

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC a 19 de junio de 2019

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo **ELIMINACIÓN DE ENTEROCOCCUS FAECALIS MEDIANTE TRES SISTEMAS DE ACTIVACIÓN DEL HIPOCLORITO DE SODIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES**

Propuesto por el **CD BERNARDO NAVARRO ROBLES**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E

**M.O. SALVADOR OLIVARES RODRÍGUEZ
SINODAL
CO-DIRECTOR DEL PROYECTO**

Ccp.- Archivo.

**ELIMINACIÓN DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* MEDIANTE TRES SISTEMAS DE
ACTIVACIÓN DEL HIPOCLORITO DE SODIO A DIFERENTES
CONCENTRACIONES**

PRESENTA

C.D. BERNARDO NAVARRO ROBLES

**PRESIDENTE
DIRECTOR DEL PROYECTO**

DR. JULIO CÉSAR GARCÍA BRIONES

**SINODALES
CO-DIRECTORES DEL PROYECTO**

DR. HORACIO EUSEBIO ALMANZA REYES

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

M.O. SALVADOR OLIVARES RODRÍGUEZ

Tijuana, Baja California, junio de 2019

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a mi familia, mis padres y hermanos que siempre están para apoyarme incondicionalmente.

Agradecer a mi director de tesis, doctor Julio César García Briones por apoyarme en todo el desarrollo de nuestro proyecto de tesis.

A la Doctora Gaby un especial agradecimiento por transmitirnos su seguridad y por la dedicación que siempre ha tenido hacia el posgrado.

También quiero agradecer de manera muy sincera al doctor Horacio Almanza y a Claudia que siempre tuvieron la mejor actitud y disposición de ayudarme durante todo el desarrollo de la experimentación.

Al doctor M.O. Salvador Olivares Rodríguez se le agradece su apoyo en la escuela y con la información de los viajes, también por ser una persona tan sincera.

También quiero agradecer a Adri, Vicky y Chío por ayudarnos en todo y hacer más amena nuestra estancia aquí.

Y a CONACYT por la beca otorgada.

TABLA DE CONTENIDO

1. AGRADECIMIENTOS	i
2. TABLA DE CONTENIDO	ii
3. ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
4. ÍNDICE DE TABLAS.....	iii
5. LISTA DE ABREVIATURAS	iv
6. RESUMEN	iv
7. INTRODUCCIÓN.....	1
7.1 Endodoncia.....	1
7.2 Microorganismos presentes en conductos radiculares	3
7.3 <i>Enterococcus faecalis</i>	4
7.4 Sustancias irrigantes	6
7.5 Hipoclorito de sodio	7
7.8 Ácido etildiaminotetrácetico (EDTA).....	9
7.9 Solución salina	10
7.10 Ejemplos de métodos de activación	10
7.11 Activación ultrasónica.....	10
7.12 Activación sónica	11
7.13 Activación rotatoria (Finishing File)	12
7.14 Sistemas por evaluar	13
8. JUSTIFICACIÓN	7
9. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
10. HIPÓTESIS.....	9
10.1 Hipótesis de trabajo	9
10.2 Hipótesis nula.....	9
10.3 Hipótesis alternativa.....	9
11. OBJETIVOS.....	10
11.1 Objetivo general	10

TABLA DE CONTENIDO

11.2 Objetivos específicos	10
12. VARIABLES.....	12
12.1 Variables dependientes	12
12.2 Variables independientes	12
12.3 Operación de variables.....	12
13. MATERIALES Y MÉTODOS	14
13.1 Tipo de estudio	14
13.2 Universo de estudio.....	14
13.3 METODOLOGÍA	14
13.4 Materiales	14
13.5 Selección y preparación de dientes	15
13.6 Contaminación bacteriana intraconducto	15
13.7 Irrigación del conducto	18
14. RESULTADO	21
14.1 Evaluación del crecimiento bacteriano	21
15. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	26
16. DISCUSIÓN	28
17. CONCLUSIONES.....	32
18. RECOMENDACIONES.....	33
19. BIBLIOGRAFÍA.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pulpa dental y tejidos perirradiculares asociados, cemento ligamento y hueso.	2
Figura 2. Pasos para realizar un tratamiento de conductos. Acceso, conformación, desinfección y obturación.2	
Figura 3. Biofilm polimicrobiano presente en conductos radiculares.	4
Figura 4. Imágenes de microscopio electrónico de barrido. a) se observan colonias de <i>E. faecalis</i> invadiendo los túbulos dentinarios. b) Se observan colonias de <i>E. faecalis</i> y <i>C. albicans</i> obstruyendo la entrada de los túbulos dentinarios.	6
Figura 5. Presentación de la Clorhexidina utilizada en endodoncia.	7
Figura 6. Presentación comercial de hipoclorito de sodio utilizado en endodoncia.	8
Figura 7. Presentación comercial del EDTA al 17%.	9
Figura 8. Ultrasonido NSK Varios 370.	11
Figura 9. Endoactivador.	12
Figura 10. Punta de polímero Finishing file.	13
Figura 11. A) Recolección de alícuotas de los conductos radiculares. B) Siembra de muestras en agar sangre.	16
Figura 12. CN (4): Fotografía de grupo control negativo. Se extrajeron muestras después de 7 días y se incubaron por 24 horas a 37°C con 5% de humedad tras sembrado del control negativo no se observa crecimiento bacteriano.	17
Figura 13. CP (5): Fotografía de grupo control positivo. Se extrajeron muestras después de 7 días y se incubaron por 24 horas a 37°C con 5% de humedad en donde se observa el crecimiento de <i>Enterococcus faecalis</i>	17
Figura 14A,14B y 14C. Fotografía de las 24 muestras tras los primeros 7 días de incubación a 37°C con 5% de humedad en donde se observa el crecimiento de <i>Enterococcus faecalis</i>	18
Figura 15a,15b y 15c. Fotografía de las 24 muestras después de 14 días de incubación a 37°C con 5% de humedad en donde se observa el crecimiento de <i>Enterococcus faecalis</i>	18
Figura 16. Hipoclorito de sodio preparado a diferentes concentraciones.	19
Figura 17. Distribución de los grupos.	20
Figura 18. Grupo control negativo. Control negativo después de incubación de 21 días. No se observa crecimiento bacteriano.	21
Figura 19. Grupo control positivo. 5 muestras del grupo control positivo después de la incubación de 21 días. Se observan colonias densas.	22
Figura 20. Grupo experimental 1. Ultrasonido A) Muestras tomadas después de 21 días de incubación a 37°C con 5% de humedad, antes de aplicar los métodos de desinfección. B) Muestras tomadas después de aplicar PUI+NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06%. Se observa que se redujeron considerablemente el número de colonias de <i>Enterococcus faecalis</i>	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 21. Grupo experimental 2. Endoactivador. A) Muestras tomadas después de 21 días de incubación a 37°C con 5% de humedad, antes de aplicar los métodos de desinfección. B) Muestras tomadas después de aplicar Endoactivador+NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06%. Se observa que se redujeron considerablemente el número de colonias de <i>Enterococcus faecalis</i>	23
Figura 22. Grupo experimental 3. Finishing File. A) Muestras tomadas después de 21 días de incubación a 37°C con 5% de humedad, antes de aplicar los métodos de desinfección. B) Muestras tomadas después de aplicar Finishing File+NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06%. Se observa que se redujeron considerablemente el número de colonias de <i>Enterococcus faecalis</i>	23
Figura 23. Grupo experimental 4. No activación A) Muestras tomadas después de 21 días de incubación a 37°C con 5% de humedad, antes de aplicar los métodos de desinfección. B) Muestras tomadas después de aplicar NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06% por un minuto. Se observa que se redujeron considerablemente el número de colonias de <i>Enterococcus faecalis</i>	24
Figura 24. Reacción de saponificación del hipoclorito de sodio al contacto con tejido orgánico.....	29
Figura 25. Reacción de neutralización de aminoácidos del hipoclorito de sodio.....	29
Figura 26. Reacción de cloraminación.....	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables de estudio.....13

Tabla 2: Muestra resultados de grupos experimentales. **Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC: American Type Culture Collection.

BHI: Infusión cerebro-corazón.

CN: Control negativo.

CP: Control positivo.

cpm: Ciclos por minuto.

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

G: Grupo.

°C: Grados centígrados.

h: Horas.

kHz: Kilohertz.

min: Minuto.

mm: Milímetros.

mL: Mililitros.

μL: Microlitros.

N: Número de muestras.

NA: No activación.

NaCl: Cloruro de sodio.

NaOCl: Hipoclorito de sodio.

nm: Nanómetros.

pH: Potencial de hidrogeno.

NSK: Nippon Seikō Kabushiki-gaisha(japonés), Japanese Precision Company (inglés).

rpm: Revoluciones por minuto.

RESUMEN

El tratamiento de conductos tiene como objetivo principal la limpieza mecánica y química de la cavidad pulpar y su obturación tridimensional con un material de sellado inerte y un sellado coronal que prevenga el ingreso de *Enterococcus faecalis* ha sido el microorganismo predominantemente aislado en dientes con enfermedad periapical persistente. Se le atribuye ser uno de los causantes de los fracasos endodónticos, por su capacidad para adaptarse a los cambios ambientales en el conducto radicular después del tratamiento endodóntico y permanecer como un patógeno en el sistema de conductos radiculares.

El hipoclorito de sodio ha sido utilizado por años como desinfectante por excelencia en endodoncia, ya que tiene la capacidad de matar microorganismos y disolver el tejido orgánico, por las anteriores características y con el fin de potencializar el efecto de los irrigantes se ha propuesto la activación con distintos dispositivos como ultrasonido o activación sónica. En el presente estudio se utilizaron 3 métodos de activación del hipoclorito de sodio a 3 concentraciones distintas, probando su efecto en la eliminación de *Enterococcus faecalis* en conductos de dientes extraídos.

En el presente estudio se utilizaron 33 incisivos inferiores unirradiculares. Cada diente se decoronó para producir segmentos de dientes con una longitud de raíz estándar de 15 mm. El conducto fue instrumentado con el sistema Edge Sequel sapphire(Edgeendo) hasta un calibre 35/04, con técnica Crown down. Cada conducto instrumentado se irrigó con NaOCl al 6% administrado a través de una aguja de jeringa de calibre 30 de salida lateral después de cada lima hasta que se alcanzó el tamaño apical de 35/04. El riego final se realizó con 2mL ácido etilendiaminotetraacético al 17% (Canal Pro, Coltene, Whaldent). El ápice de la raíz se selló con resina fotocurable y las superficies se barnizaron con esmalte de uñas dos veces para producir un sistema de conducto cerrado. Todas las muestras se esterilizaron en autoclave a 121° C durante 30 min.

Enterococcus faecalis (ATCC 29212, American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE. UU.) que fue propagó en medio de infusión de cerebro y corazón

RESUMEN

esterilizado (BHI; Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) A 37°C en una cámara aeróbica durante 24 h. La densidad óptica del medio que contiene bacterias se ajustó a 1 a 600 nm (1×10^8 células / mL). Los dientes se colocaron en tubos eppendorf. Se inocularon 20 µL de suspensión de bacterias en cada conducto. Todos los dientes se incubaron en una cámara aeróbica a 37°C durante 21 días para generar biofilm de *Enterococcus Faecalis* de una sola especie madura en la totalidad del conducto radicular. Se añadieron 10µL de inóculo fresco a cada conducto al final de cada semana. Se usó una micropipeta con puntas estériles para recolectar muestras (bacterianas) de cada conducto, para realizar el cultivo bacteriano, extendiendo el inóculo con asa calibrada en agar sangre con las 33 muestras y dejándolo incubar por 24 h a 37° C con el fin de observar el crecimiento bacteriano.

Se utilizó el ultrasonido, endoactivador y las puntas finishing file, en sinergia con hipoclorito al 6%, 0.6% y 0.06%. Se midió la capacidad de estos sistemas de activación en la eliminación de *Enterococcus faecalis*. A continuación, fueron sembradas las muestras en agar sangre antes y después de aplicar los métodos de desinfección. El método de activación no influyó en la eliminación de bacterias, por lo contrario, la concentración del hipoclorito de sodio tuvo un papel preponderante.

INTRODUCCIÓN

Endodoncia

La endodoncia, como conjunto de conocimientos metódicamente formado y ordenado, constituye una ciencia, integrada en el conjunto de las ciencias de la salud. Su objetivo es el estudio de la estructura, la morfología, la fisiología y la patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares. En su ámbito integra las ciencias básicas y clínicas que se ocupan de la biología de la pulpa, así como la etiopatogenia, el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de las enfermedades y lesiones de la misma y de los tejidos perirradiculares asociados. El ámbito de la endodoncia incluye el diagnóstico diferencial y el tratamiento del dolor bucofacial de origen pulpar y periapical; los tratamientos para mantener la vitalidad de la pulpa; los tratamientos de conductos radiculares cuando es inviable conservar su vitalidad o cuando existe necrosis de la misma, con o sin complicación periapical; los tratamientos quirúrgicos para eliminar los tejidos periapicales inflamatorios consecuencia de patología pulpar, así como la resección apical, la hemisección y la radicectomía; tratamiento de la afectación de la pulpa consecutiva a traumatismos, así como reimplante de dientes avulsionados; blanqueamiento de dientes con alteraciones del color; retratamiento de dientes que presentan un fracaso de un tratamiento endodóncico previo, y restauración de la corona dental mediante procedimientos que implican pernos y muñones situados en la zona antes ocupada por la pulpa. La Asociación Americana de Endodoncistas ha publicado una Guía de endodoncia clínica en la que establecen las consideraciones básicas para incrementar la calidad del diagnóstico y del tratamiento endodóncico. Las consecuencias de las reacciones inflamatorias en la pulpa y los tejidos periapicales han atormentado a la humanidad por miles de años. Históricamente, por lo tanto, el papel principal del tratamiento endodóncico ha sido curar el dolor dental causado por lesiones inflamatorias de la pulpa (pulpitis) y tejido periapical (periodontitis apical) ⁽¹⁾. (figura 1).



Figura 1. Pulpa dental y tejidos perirradiculares asociados, cemento ligamento y hueso.

Constituyendo la parte medular de la endodoncia, el tratamiento de conductos tiene como objetivo principal la limpieza mecánica y química de la cavidad pulpar y su obturación tridimensional con un material de sellado inerte y un sellado coronal que prevenga el ingreso de microorganismos. Existen diversos factores que influyen en el éxito del tratamiento de conductos tales como la técnica y la calidad de instrumentación, la irrigación, la desinfección y la obturación tridimensional del espacio de los conductos radiculares (2). (figura 2).

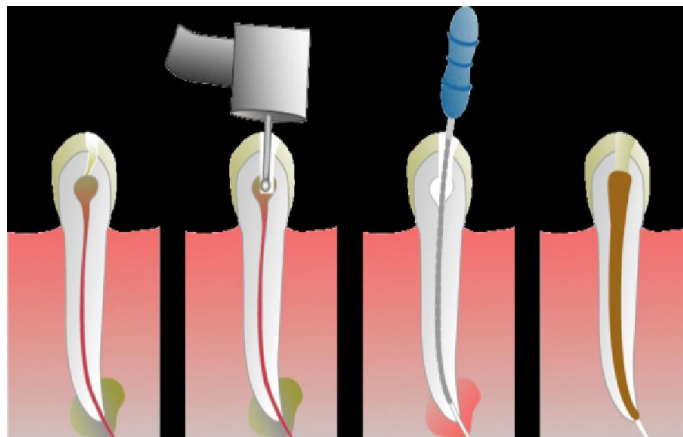


Figura 2. Pasos para realizar un tratamiento de conductos. Acceso, conformación, desinfección y obturación.

Siendo la erradicación de los microorganismos del sistema de conductos uno de los factores decisivos en el éxito del tratamiento, la endodoncia se vale de distintos medios para buscar su completa eliminación, a la fecha existen diferentes tipos de instrumentos manuales y mecanizados que en conjunto con las soluciones irrigadoras han sido empleados con el objetivo de obtener un espacio limpio y conformado para recibir la obturación del conducto radicular (3).

Microorganismos presentes en conductos radiculares

El ambiente específico en el conducto radicular, caracterizado por el tejido pulpar en degradación y la falta de oxígeno, en casos de pulpas necróticas dará como resultado una microbiota formada de manera predominante por bacterias anaerobias proteolíticas. (4). Las infecciones primarias del sistema de conducto radicular son polimicrobianas, dominadas por bacterias anaerobias. Los microorganismos aislados con mayor frecuencia antes del tratamiento de conductos son los bacilos Gram -, cocos anaerobios Gram +, bacilos anaerobios y facultativos Gram +, lactobacilos y estreptococcus Gram + facultativos (figura 3). Los anaerobios estrictos son fáciles de eliminar en el tratamiento de conductos. Por otro lado, las bacterias facultativas como *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Lactobacilos*, una vez establecidos, tiene más probabilidades de sobrevivir a la instrumentación y a la medicación químico mecánica del conducto radicular (5).

En 1965 en un experimento de Kakehashi y cols. se verificó que la microbiota fue la etiología más común de la enfermedad pulpar y perirradicular. Las infecciones endodónticas son polimicrobianas y estos microbios tienen abundantes factores de virulencia, que incluyen cápsulas bacterianas, fimbrias, lipopolisacáridos, enzimas, vesículas extracelulares, ácidos grasos, poliaminas, amoníaco y sulfuros de hidrógeno (Cohen y Burns, 2002). Los microorganismos en el conducto radicular son en gran parte no móviles y rara vez abandonan el espacio del conducto radicular y entran en el tejido periapical. No obstante, tienen la capacidad de crecer fuera del conducto y penetrar en el tejido periapical (6).

Estos microorganismos pueden provocar una infección secundaria en otro sitio del cuerpo, o incluso pueden causar complicaciones sistémicas (Chandra y Krishna, 2010 ; Provenzano et al., 2013 (7)).

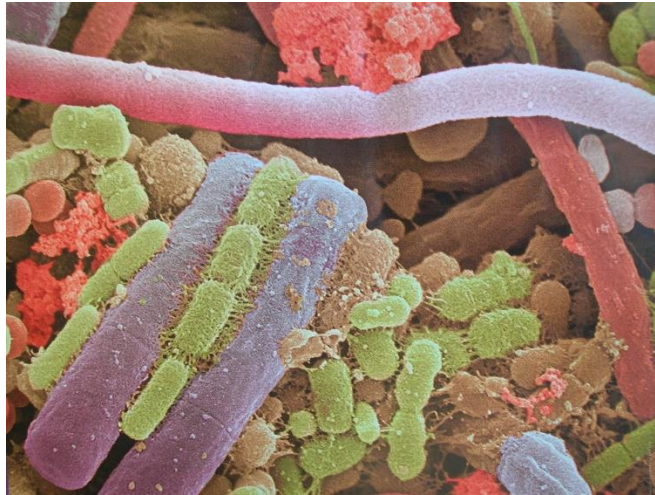


Figura 3. Biofilm polimicrobiano presente en conductos radiculares.

Enterococcus faecalis

El *Enterococcus faecalis* es un coco gram-positivo y un anaerobio facultativo (Stuart et al., 2006). Es un microorganismo fermentativo que no forma esporas y tiene forma ovoide. Se presenta solo, en pares o en cadenas cortas, es en su mayoría no hemolítico y no móvil (Rocas et al., 2004). Es un habitante normal de la cavidad bucal. La concentración de esta bacteria cambia entre los pacientes en el tratamiento de endodoncia inicial, en la mitad del tratamiento, los pacientes que reciben un nuevo tratamiento y los pacientes sin antecedentes de tratamiento endodóncico. Se asocia con lesión perirradicular crónica asintomática. En caso de tratamiento fallido del conducto radicular, su prevalencia es nueve veces más que la infección primaria. Pocos casos han reportado la presencia de *E. faecalis* aislado en los dientes obturados con lesión perirradicular (Stuart et al., 2006).

Los factores de virulencia de *E. faecalis* incluyen citoplasma, enzimas líticas como gelatinasa y hialuronidasa, sustancia de agregación, feromonas y ácido lipoteicoico. Se adhiere a las células huésped e incluso expresa proteínas que le permiten competir con otras proteínas que le permiten competir con otras células bacterianas. Se ha observado que *E. faecalis* es más dependiente de sus rasgos de supervivencia que de sus factores de virulencia (Rocas et al., 2004). Tiene la capacidad de mantener la homeostasis del pH intracelular a través de la acción de la bomba de protones, que es fundamental para mejorar su potencial de supervivencia durante el uso de medicamentos intraconducto (Tay et al., 2015). Sus moléculas como las serina proteasas, la gelatinasa y la proteína de unión al colágeno lo ayudan a unirse a la dentina. Tiene un tamaño pequeño que es útil para que resida en los túbulos dentinales. Mientras reside en los túbulos dentinales, tiene el calibre para resistir el apósito de hidróxido de calcio durante aproximadamente 10 días (Rocas et al., 2004). Se ha observado que invade los túbulos dentinarios más rápido que otros microorganismos que causan inflamación de la pulpa y se observó que sobrevivieron en el conducto durante el período de tiempo más prolongado. Tiene la capacidad de sobrevivir sin nutrición en el conducto obturado y puede reproducirse cuando entra en contacto con el suero humano (Dammachke et al., 2013) (6,7).

Diversas investigaciones demuestran que el *Enterococcus faecalis* es uno de los responsables de los fracasos endodónticos en los casos de PA (periodontitis apical), además de ser resistente a la acción de numerosas sustancias irrigantes, su permanencia en el conducto radicular está asociado, por un lado, a la capacidad de sobrevivir en ambientes hostiles y, por otro, a la formación de un biofilm con otros microorganismos. *Enterococcus faecalis* ha sido el microorganismo predominantemente aislado en dientes con enfermedad periapical persistente. Se le atribuye ser uno de los causantes de los fracasos endodónticos, por su capacidad para adaptarse a los cambios ambientales en el conducto radicular después del tratamiento endodóntico y permanecer como un patógeno en el sistema de conductos radiculares, así mismo la presencia de factores de virulencia como la sustancia de agregación y las proteínas de superficie entre

otros, su capacidad de organizarse en biofilm, su capacidad de penetrar profundamente en el interior de pequeñas ramificaciones y túbulos dentinarios, su capacidad de adherirse al colágeno de las paredes de dentina radicular hace que sobreviva al estrés extremo ambiental, es decir a los protocolos de irrigación y de medicación intraconducto, utilizados en la terapia endodóntica. (Figura 4). Todo ello cataloga a este microorganismo como resistente, altamente agresivo y de difícil eliminación. Por lo que erradicarlo del medio intra y extrarradicular es otro gran desafío para el logro del éxito del tratamiento endodóntico. Dado que las técnicas de instrumentación de conductos radiculares por sí solas son incapaces, un irrigante químico activado es necesario para ayudar en la reducción del número de bacterias y sus subproductos tóxicos (6,7).

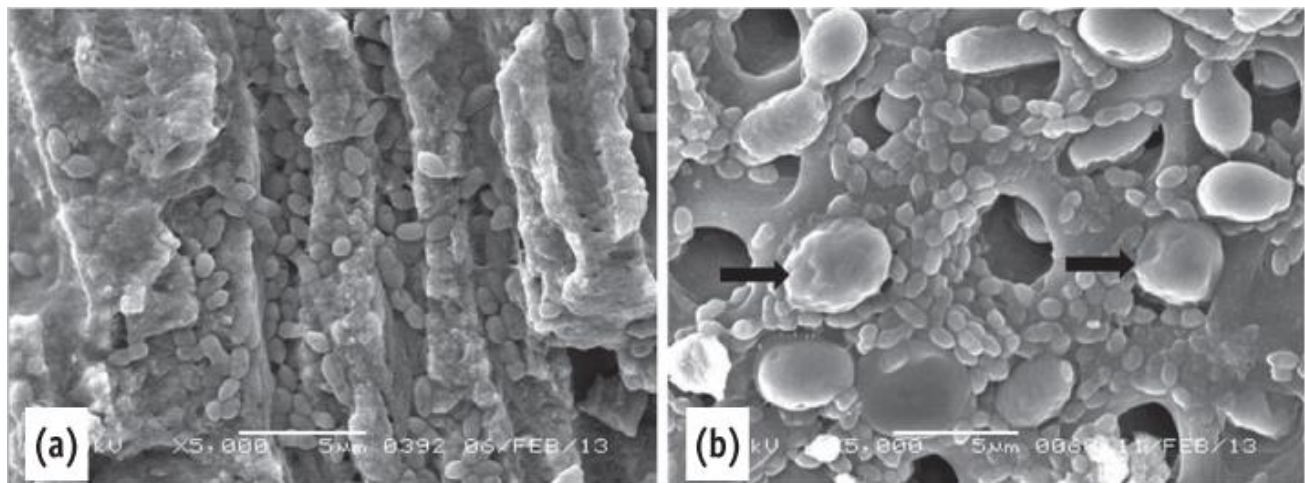


Figura 4. Imágenes de microscopio electrónico de barrido. a) se observan colonias de *E. faecalis* invadiendo los túbulos dentinarios. b) Se observan colonias de *E. faecalis* y *C. albicans* obstruyendo la entrada de los túbulos dentinarios.

Sustancias irrigantes

En la actualidad, ningún irrigante tiene la capacidad por sí solo de disolver el tejido pulpar orgánico, y de remover la materia inorgánica de las paredes del conducto, incluso si son usados a pH bajo, aumentando su temperatura o añadiendo surfactantes para mejorar su humectancia. Es por esto que en la práctica actual se emplean varios irrigantes: hipoclorito de sodio (NaOCl), agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), o desinfectantes como la clorhexidina (8). (figura 5). El

objetivo de la irrigación es eliminar los restos de tejido pulpar y los microorganismos del sistema de conductos. La eficacia de la irrigación depende del mecanismo de trabajo del irrigante, así como de la capacidad de mantener el irrigante en contacto con los elementos y estructuras del conducto que deben ser eliminados. En conductos con un diámetro apical mayor, a pesar que el riesgo de extrusión del agente de irrigación es mayor, el desbridamiento y desinfección de los conductos es mejor. Sin embargo, sigue siendo difícil limpiar a fondo la parte más apical de cualquier preparación ⁽⁹⁾.



Figura 5. Presentación de la Clorhexidina utilizada en endodoncia.

Hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio de 0,5-6% (NaOCl), se considera la solución irrigadora más utilizada en la práctica clínica endodóntica, por ser la que más se acerca a las condiciones ideales por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital, además de poseer un amplio efecto antibacteriano, matando rápidamente bacterias, esporas, hongos y virus. Sus concentraciones clínicas varían entre el 0.5% al 6%, con la dilución del NaOCl disminuye significativamente la propiedad antibacteriana al igual que disminuye su toxicidad ⁽¹⁰⁾. Según Estrela et al. el NaOCl opera mediante tres mecanismos ⁽¹¹⁾ :

INTRODUCCIÓN

1. Saponificación: actúa como un solvente orgánico que degrada los ácidos grasos hacia sales ácidas grasosas (jabón) y glicerol (alcohol), reduce la tensión superficial de la solución remanente con un pH de 12.
2. Neutralización: neutraliza aminoácidos formando agua y sal.
3. Cloraminación: la reacción entre el cloro y el grupo amino forma cloraminas que interfieren en el metabolismo celular. El cloro posee una acción antimicrobiana inhibiendo enzimas esenciales de las bacterias por medio de oxidación.

El NaOCl presenta las siguientes características: (i) disuelve tejido orgánico e inorgánico, (ii) mejora su capacidad de disolución al aumentar la temperatura, (iii) es bactericida por que libera cloro y oxígeno nascente, (iv) mediante su activación ultrasónica crea un efecto cavitacional y un aumento en la temperatura que potencia la acción de limpieza, (v) es un agente blanqueante, (vi) rompe la tensión superficial, (vii) neutraliza los productos tóxicos porque actúa sobre las proteínas y (viii) tiene efecto desodorante por actuar sobre los productos de descomposición. Sin embargo, la gran desventaja que presenta el NaOCl es su alta citotoxicidad ^(12, 13), por lo tanto, su uso impone cuidados en la técnica para evitar su proyección al interior de los tejidos periapicales. (Figura 6).



Figura 6. Presentación comercial de hipoclorito de sodio utilizado en endodoncia.

Ácido etildiaminotetrácetico (EDTA)

El EDTA fue introducido por Nygaard-Ostby en 1957 como parte del tratamiento endodóntico. La concentración más utilizada es al 17% y puede presentarse como líquido o como pasta. Puede formar complejos estables de calcio con el detritus y con el calcio de las paredes del conducto. Actúa reemplazando los iones calcio por iones sodio, lo que hacen que la dentina sea más soluble. El EDTA se emplea para: (i) ayudar al ensanche de los conductos radiculares estrechos y/o calcificados, (ii) eliminar el detritus y (iii) preparar las paredes dentinarias para mejorar la adhesión de los materiales de relleno (14, 15).

Las características del EDTA al 17% son: (i) favorece la limpieza del conducto al formar complejos con el calcio del detritus, (ii) elimina el detritus y permite localizar conductos, (iii) es biocompatible, (iv) su potencial antiséptico es limitado, (v) no disuelve tejido orgánico y (vi) produce desmineralización de tejidos duros. Este agente químico es de gran ayuda en el tratamiento endodóntico ya que su uso en conjunto con el NaOCl permite asegurar tanto una mayor desinfección del sistema de conductos como una adecuada preparación del tejido dentinario para obtener un mejor sellado tras su obturación (16). (figura 7).



Figura 7. Presentación comercial del EDTA al 17%.

Solución salina

La solución salina es el irrigante más biocompatible que existe. Controla la hemorragia en los conductos, ayuda al desbridamiento del tejido, expelle el detritus, lubrica las paredes del conducto durante la preparación biomecánica además, disminuye la irritación e inflamación de los tejidos perirradiculares ⁽¹²⁾. Debido a su mínimo efecto antibacteriano y de disolución de tejido, presenta la gran desventaja de ser demasiado débil para limpiar con eficacia el sistema de conductos radiculares. Para asegurar la desinfección del sistema de conductos debe ser utilizada en combinación con otros agentes irrigantes. Se recomienda alternar el uso de la solución salina entre el uso de otros agentes irrigantes para evitar que estos se mezclen, además de utilizarla como último irrigante para eliminar cualquier agente químico remanente ⁽¹²⁾.

Ejemplos de métodos de activación

Entre los sistemas que existen para la activación de la irrigación podemos destacar: activación sónica (Endoactivator, Maillefer, Ballaigues-Suiza) y ultrasónica (Irrisafe, Satelec, Merignac-Francia), activación hidrodinámica mediante movimiento pulsátil del irrigante (Rinsendo®, Airtechniques Inc., 1295 Walt Whitman Road., Melville, New York 11747) ⁽¹⁷⁾, activación mediante el cono maestro ^(18,19) y desinfección mediante fotoactivación (PDA System, high Tech Laser Australia) ^(20, 21). La activación sónica y ultrasónica son las técnicas de mayor uso en el campo de la endodoncia.

Activación ultrasónica

La activación ultrasónica parece ser uno de los métodos complementarios más ampliamente utilizados con el objetivo de aumentar el desbridamiento y la desinfección logrados por el suministro con jeringa de las soluciones ^(22,23). Fue descrito por primera vez por Weller et al ⁽²⁴⁾. El término "pasivo" se usó para enfatizar que el instrumento oscilante no debe tocar las paredes del conducto ⁽²⁵⁾.

El uso del ultrasonido en Endodoncia, se basa en los distintos fenómenos que se producen durante la aplicación de éste dentro del conducto radicular. Estos fenómenos: oscilación, cavitación, microcorriente acústica y generación de calor, van a producir efectos sobre las estructuras dentarias, especialmente sobre la dentina y la capa de barrillo dentinario, así como la potenciación de efectos antimicrobianos al utilizarse en combinación con soluciones irrigantes (26).

El dispositivo NSK Varios 370 es un sistema de irrigación pasiva basado en la transmisión de ondas de ultrasonido (28-32 kHz de frecuencia) (Figura 8). (PUI, por sus siglas en inglés) (27).



Figura 8. Ultrasonido NSK Varios 370.

Activación sónica

Los sistemas con alimentación sónica se han descrito como un método complementario para desalojar las biopelículas de las paredes del conducto (28) a través de un mecanismo de transmisión acústica (29). El último se refiere al microstreaming de un fluido impulsado por la absorción de oscilaciones acústicas de alta amplitud. La transmisión acústica es uno de los dos mecanismos propuestos para la eliminación de residuos y biopelículas en el espacio del conducto radicular (30).

Recientemente el sistema Endoactivator (Dentstply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, EEUU) fue introducido para mejorar la fase de irrigación. (Figura 9). Este sistema de irrigación sónico está formado por 2 componentes, una pieza de mano y 3 puntas de polímero con diferentes calibres que no cortan dentina. El Endoactivator funciona con

tres velocidades: 2000 ciclos por minuto (cpm). 6000 cpm 10,000 cpm y su diseño permite una agitación vigorosa y fluida intraconducto,. Las puntas están diseñadas para ser fuertes, flexibles y no romperse fácilmente. Tienen una superficie suave y lisa por lo que no cortan la dentina. El sistema EndoActivator, es capaz de limpiar de forma efectiva los restos de conductos laterales, eliminar barrillo dentinario y desligar los biofilms en los conductos curvos de los molares ⁽³¹⁾.



Figura 9. Endoactivador.

Activación rotatoria (Finishing File)

Recientemente se ha introducido una punta de polímero no tóxico que agita los irrigantes dentro del conducto radicular. La finishing file proporciona ahorro de tiempo y costo sobre la instrumentación sónica o ultrasónica. Limpia eficientemente las paredes y extrae los desechos residuales del conducto radicular. El diseño único de la ranura de compensación de la Finishing file permite que la lima agite el hipoclorito de sodio y elimine los restos restantes de la pared de dentina sin agrandar aún más el conducto. Tamaño: 20 mm, conicidad: .04, longitudes disponibles: 21, 25 y 31 mm, agita y remueve debris, de un solo uso, y se utiliza en motor endodóntico a 700 a 900 rpm ⁽³²⁾. (figura 10).



Figura 10. Punta de polímero Finishing file.

Sistemas por evaluar

Para este estudio serán evaluados los siguientes sistemas de activación: Irrigación ultrasónica activa (NSK Varios 350), irrigación sónica (endoactivador-10 kHz), finishing File (800 rpm), además de hipoclorito de sodio al 6%, 0.6% y .06%

JUSTIFICACIÓN

Este estudio tiene como finalidad evaluar la capacidad del hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones para de eliminar el *Enterococcus Faecalis* del conducto radicular, en sinergia con diferentes métodos de activación, para que el clínico pueda ser crítico y tome una decisión de qué sistema usar teniendo en consideración los riesgos y beneficios que estos otorgan. Microorganismos y sus subproductos tóxicos desempeñan un papel fundamental en el inicio y el desarrollo de la pulpitis y la periodontitis apical. Por lo tanto, es esencial eliminar o al menos reducir las poblaciones microbianas a un nivel subclínico que sea compatible con la cicatrización del tejido perirradicular mediante la respuesta inmune del huésped (33).

El *Enterococcus faecalis* ha sido el microorganismo predominantemente aislado en dientes con enfermedad periapical persistente. Se le atribuye ser uno de los causantes de los fracasos endodónticos, por su capacidad para adaptarse a los cambios ambientales en el conducto radicular después del tratamiento endodóntico y permanecer como un patógeno en el sistema de conductos radiculares (7). Cuando esta especie crece en biofilms, puede ser hasta mil veces más resistente a la acción de los antimicrobianos que cuando se haya como bacteria planctónica (suspendida en medio líquido y no adherida a ninguna superficie) (34). Una característica importante es su habilidad para crecer en medios con pH ácido y alcalino, donde este último normalmente inhibe el crecimiento y supervivencia de otros muchos microorganismos. En relación a esto, McHugh y cols, evaluaron el pH necesario para inhibir su crecimiento y el experimento *in vitro* demostró que se necesita un pH mayor de 11 para su erradicación (35).

El hipoclorito de sodio al 2.5% tiene un pH aproximadamente del 11.75 (36) lo que lo hace ideal para la eliminación de bacterias. Dado que las técnicas de instrumentación de conductos radiculares por sí solas son incapaces de eliminar bacterias intrarradiculares, un irrigante químico activado es necesario para ayudar en la reducción del número de bacterias y sus subproductos tóxicos (37).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el presente estudio se plantea la evaluación de diferentes métodos de activación del hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones, en relación a la capacidad que tienen de eliminar un biofilm producido por *Enterococcus faecalis*.

¿Los diferentes métodos de activación del hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones ayudarán a eliminar el biofilm producido por *Enterococcus faecalis*?

HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo

Los diferentes métodos de activación del hipoclorito de sodio al 6%, 0.6% y 0.06%, nos permitirá evaluar la capacidad que presentan para eliminar el biofilm producido por *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de incisivos inferiores extraídos.

Hipótesis nula

Los 3 métodos de activación del hipoclorito de sodio, tienen la misma capacidad de eliminar un biofilm producido por *Enterococcus faecalis*.

Hipótesis alternativa

Si existe una diferencia estadísticamente significativa en la presencia de biofilm producido por *Enterococcus faecalis* en los conductos radiculares inoculados después del uso de los diferentes métodos de activación.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes métodos de activación del hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones para eliminar el biofilm producido por *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de incisivos inferiores extraídos.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la velocidad de onda por Irrigación ultrasónica activa (Various 370- 30 KHz) en la activación del hipoclorito de sodio al 6%, 0.6% y 0.06% para eliminar el biofilm producido por *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de incisivos inferiores extraídos.
- Evaluar el efecto de la velocidad de onda por irrigación sónica (Endoactivator- 10 kHz) en la activación del hipoclorito de sodio al 6%, 0.6% y 0.06% para eliminar el biofilm producido por *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de incisivos inferiores extraídos.
- Evaluar el efecto de la velocidad de onda por irrigación Finishing file (800 rpm- 0.013 kHz) en la activación del hipoclorito de sodio al 6%, 0.6% y 0.06% para eliminar el biofilm producido por *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de incisivos inferiores extraídos.
- Evaluar si influye la concentración del hipoclorito de sodio en la eliminación de biofilm producido por *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de incisivos inferiores extraídos.

VARIABLES

Variables dependientes

- Acción prolongada y características (células vivas y muertas o con membrana dañada) del *Enterococcus Faecalis*.

Variables independientes

- Velocidad de onda por irrigación ultrasónica activa (Various 370- 30 KHz).
- Velocidad de onda por irrigación sónica (Endoactivator- 10 kHz).
- Velocidad de onda por irrigación Finishing file (800rpm).
- Hipoclorito de sodio al 6%, 0.6% y 0.06%.

Operación de variables

Se evaluará la capacidad del hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones (6%, 0.6% y 0.06%) para eliminar el biofilm producido por *Enterococcus faecalis* con los distintos métodos de activación. Los órganos dentarios serán estandarizados, instrumentados con el sistema Edge Sequel Sapphire (Albuquerque, New México, USA) de acuerdo al fabricante, se sellarán las paredes externas radiculares y posteriormente serán esterilizados. Se prepararán muestras en 4 grupos y se contaminarán con el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), posteriormente serán incubadas hasta un periodo de 21 días. A continuación, se pondrán en contacto por 1 minuto con diferentes concentraciones del hipoclorito de sodio (6%, 0.6% y 0.06%) y a cada uno de los grupos se les aplicará las diferentes velocidades de onda por irrigación ultrasónica activa (Various 370- 30 kHz), sónica (Endoactivator- 10 kHz) y Finishing file (800rpm) estandarizando el tiempo de activación en 3 ciclos de 20 segundos intercambiando la solución irrigante en cada ciclo. Se tomarán muestras antes y después de los protocolos de desinfección. Las muestras se recolectarán de los conductos y se van a sembrar en placas de agar sangre para observar si hay crecimiento bacteriano.

VARIABLES

Variable	Conceptualización	Tipo de variable	Indicadores	Escala	Valor
<i>Enterococcus faecalis</i>	El <i>Enterococcus faecalis</i> es un cocos Gram positivos, de morfología esférica u ovoide de 0.6 a 2.0 x 0.6 a 2.5 µm; anaerobio facultativo, no tienen motilidad, presenta gran capacidad de adaptabilidad a condiciones extremas como NaCl 6.5%, pH 9.6, son catalasa negativa, crecen a temperaturas de 10 a 45°C, pero su temperatura óptima es de 37°C.	Variable dependiente	Cocos o esferas en cadenas cortas, bacteria gram-positiva.	Nominal	Positivo Negativo
Hipoclorito de sodio	El hipoclorito de sodio es un compuesto químico, fuertemente oxidante de fórmula NaOCl.	Variable Independiente	El hipoclorito de sodio actúa inhibiendo las reacciones enzimáticas y desnaturalizando las proteínas de <i>Enterococcus faecalis</i> .	Nominal Concentración: 6% 0.6% 0.06%	Positivo Negativo
Irrigación ultrasónica activa (Various 370- 30 KHz).	La Activación ultrasónica funciona desde los 28 a los 32 kHz, genera energía que puede dañar la estructura de los biofilms bacterianos	Variable independiente	Microactivación acústica, cavitación hidrodinámica y generación de calor	Ultrasonido puntas U a 30 kHz	Positivo Negativo
Irrigación sónica (Endoactivator- 10000hz).	La Activación sónica va desde los 6 a los 10 kHz, el endoactivador puede generar esta energía mediante la pieza de mano y la punta de polímero	Variable independiente	Microactivación acústica y movimientos oscilatorios	Endoactivador 10 kHz	Positivo Negativo
Irrigación Finishing file (800rpm)	Punta de polímero no tóxica que funciona en un motor rotatorio a 800 rpm	Variable independiente	Oscilaciones dentro del conducto	Motor Elements+ Finishing File 800 rpm	Positivo Negativo

Tabla 1. Variables de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Experimental y observacional.

Universo de estudio

- Velocidad de onda por irrigación ultrasónica activa (Various 370- 30 kHz).
- Velocidad de onda por irrigación sónica (Endoactivator- 10 kHz).
- Velocidad de onda por irrigación Finishing file (800rpm-0.013 kHz).
- Hipoclorito de sodio al 6%, 0.6% y 0.06%.
- Se utilizarán 33 órganos dentales unirradiculares humanos intactos con raíces rectas de un solo conducto y maduros, extraídos recientemente por motivos ortodónticos o periodontales.

METODOLOGÍA

Materiales

Los materiales que se van a utilizar para instrumentar los dientes son EdgeEndo 35/04(500-400), con el motor Elements (sybron endo) limas manuales 10, 15 , 20 y 25 (Sybron Endo) hipoclorito de sodio marca Clorox, EDTA al 17 %(Canal Pro, Coltene, Whaldent), discos de diamante, NaCl al 9%, *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212, American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE. UU.), infusión cerebro corazón (BHI; Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.), Ultrasonido NSK Varios 370 con puntas #20 satelec, platos de agar, 33 incisivos inferiores de reciente extracción, siliconas (coltenne, whaldentr), puntas de papel #30(sybron endo), fresas troncocónicas de diamante y de fisura, incubadora.

Selección y preparación de dientes

En el presente estudio se utilizaron 33 incisivos inferiores de una sola raíz intactos y libres de caries. Se tomaron radiografías para verificar que fueran unirradiculares y con ligera o sin curvaturas radicales. Los dientes extraídos se almacenaron en NaCl al 0.9% hasta su uso. Cada diente se decoronó para producir segmentos de dientes con una longitud de raíz estándar de 15 mm. Solo se seleccionaron los incisivos en forma cónica para garantizar que no hubiera un istmo que las limas no pudieran tocar. Después del acceso a la pulpa, se utilizó una lima K de tamaño 10 (Sybron endo) para lograr la permeabilidad apical y establecer una longitud de trabajo de 1 mm por debajo del foramen apical. El conducto fue instrumentado utilizando el sistema Edge Sequel sapphire hasta un calibre 35/04, utilizando una técnica de Crown down. Cada conducto instrumentado se irrigó con NaOCl al 6% administrado a través de una aguja de jeringa de calibre 30 de salida lateral después de cada lima hasta que se alcanzó el tamaño apical de 35/04. El riego final se realizó con 2 mL ácido etilendiaminotetraacético al 17% (Canal Pro, Coltene, Whalident). La eliminación de los componentes orgánicos e inorgánicos de los residuos creados durante la instrumentación convirtió los túbulos dentinales en patentes para el posterior crecimiento y proliferación de bacterias dentro de los túbulos dentinales de las paredes. El ápice de la raíz se selló con resina fotocurable y las superficies se barnizaron con esmalte de uñas dos veces para producir un sistema de conducto cerrado. Todas las muestras se esterilizaron en autoclave a 121° C durante 30 min.

Contaminación bacteriana intraconducto

El *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212, American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE. UU.) se propagó en medio de infusión de cerebro y corazón esterilizado (BHI; Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) A 37°C en una cámara aeróbica durante 24 h. La densidad óptica del medio que contiene bacterias se ajustó a 1 a 600 nm (1×10^8 células / ml). Los dientes se colocaron en tubos eppendorf. Se inocularon 20 µL de suspensión de bacterias en cada conducto. Se insertó suavemente una lima K de tamaño 10 estéril en cada conducto hasta la longitud de trabajo y se

MATERIALES Y MÉTODOS

recuperó para recubrir la pared del conducto uniformemente con el inóculo. Todos los dientes se incubaron en una cámara aeróbica a 37° C durante 21 días para generar biofilm de *Enterococcus faecalis* de una sola especie madura en la totalidad del conducto radicular. Se añadieron 10 µL de inóculo fresco a cada conducto al final de cada semana (figura 11A). Se usó una micropipeta estéril para recolectar muestras bacterianas de cada conducto, para cultivo bacteriano, extendiendo el inóculo con asa calibrada en agar sangre con las 33 muestras y dejándolo incubar por 24 h a 37° C observar el crecimiento bacteriano (figura 11B).



Figura 11. A) Recolección de alícuotas de los conductos radiculares. B) Siembra de muestras en agar sangre.

MATERIALES Y MÉTODOS



Figura 12. CN (4): Fotografía de grupo control negativo. Se extrajeron muestras después de 7 días y se incubaron por 24 horas a 37°C con 5% de humedad tras sembrado del control negativo no se observa crecimiento bacteriano.



Figura 13.CP(5): Fotografía de grupo control positivo. Se extrajeron muestras después de 7 días y se incubaron por 24 horas a 37°C con 5% de humedad en donde se observa el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS



Figura 14A,14B y 14C. Fotografía de las 24 muestras tras los primeros 7 días de incubación a 37°C con 5% de humedad en donde se observa el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.

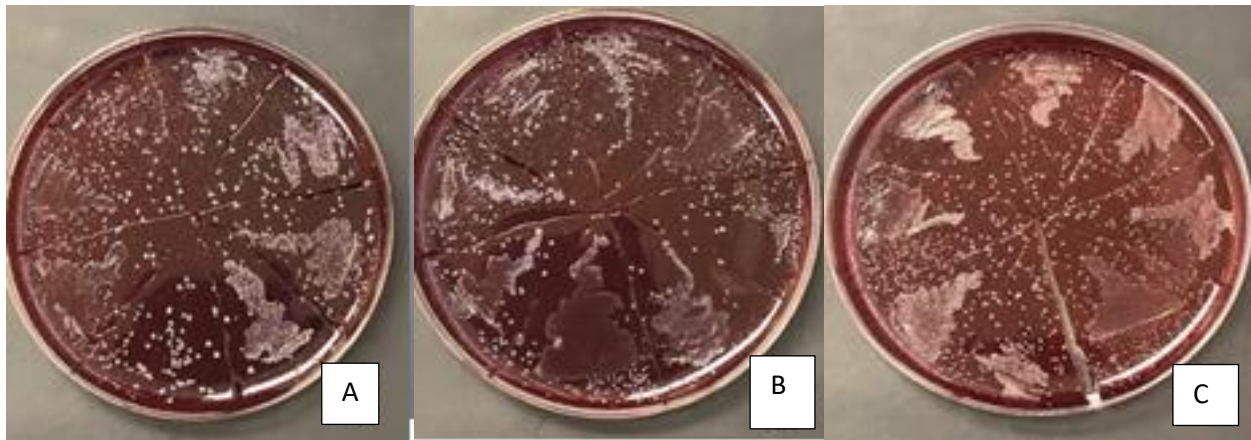


Figura 15a,15b y 15c. Fotografía de las 24 muestras después de 14 días de incubación a 37°C con 5% de humedad en donde se observa el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.

Irrigación del conducto

Antes de aplicar los métodos de desinfección, se extrajeron muestras de los conductos, y se colocaron en agar sangre para observar su crecimiento bacteriano; después todos los dientes se colocaron en tubos eppendorf nuevos. Se utilizaron 4 dientes como control negativo sin inoculación de *Enterococcus Faecalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los 29 dientes contaminados con bacterias se dividieron en 5 grupos después de 21 días de incubación según el sistema de riego empleado. Se utilizaron 5 dientes como control positivo sin irrigación y se usaron 6 dientes para cada uno de los grupos de irrigación experimental. Todos los procedimientos fueron realizados por el mismo operador. La irrigación se realizó con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 6%, 0.6% y 0.06%, el cual se preparó de la siguiente manera:

- 1) El NaOCl al 6 %: se extrajeron 10 mL de desinfectante directamente de la botella y se colocó en un tubo.
- 2) El NaOCl al 0.6%: a 1 mL de NaOCl al 6%, se le agregaron 9 mL de agua destilada y se colocó en un tubo.
- 3) El NaOCl al 0.06%: a 1 mL de NaOCl al 0.6%, se le agregaron 9 mL de agua destilada y se colocó en un tubo.



Figura 16. Hipoclorito de sodio preparado a diferentes concentraciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los grupos fueron:

Control negativo (CN; N = 4): No se realizó contaminación bacteriana ni irrigación del conducto radicular.

Control Positivo (PC; N = 5): No se realizó irrigación y los conductos estaban infectados de *Enterococcus Faecalis*.

Grupo I (G1; N= 6): Fueron irrigados con 1 mL de NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06%% activado con ultrasonido en 3 ciclos de 20 segundos, mediante puntas U(Puntas U #20 Satelec, NSK).

Grupo 2 (G2; N= 6): Fue utilizando 1 mL de NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06 activado con el endoactivador a 10 kHz en 3 ciclos de 20 segundos.

Grupo 3 (G3; N=6): Fue utilizando 1 mL de NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06 mediante activación con Finishing File con el motor Elements (sybron endo) a 800 rpm.

Grupo 4(G4; N=6): Se irrigó con 1 mL de NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06%, por 1 minuto.

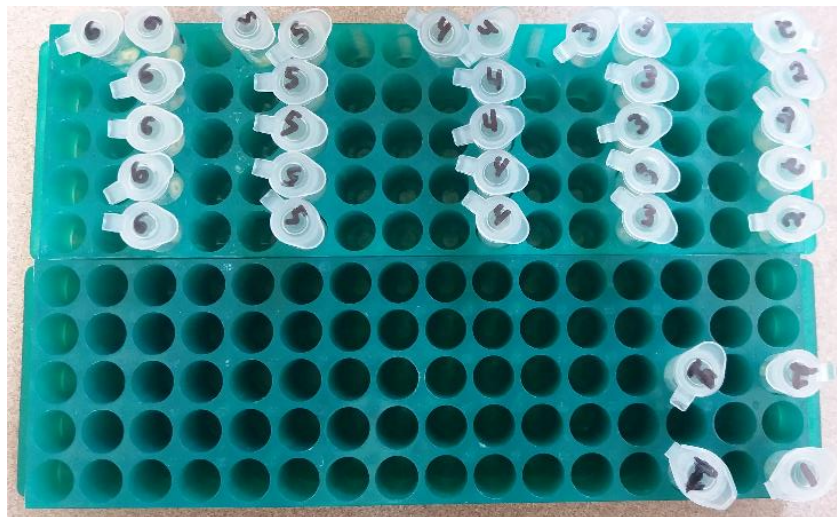


Figura 17. Distribución de los grupos.

RESULTADOS

Evaluación del crecimiento bacteriano

Seis dientes de cada grupo experimental y cinco dientes del grupo de CP se utilizaron para evaluar el crecimiento bacteriano intraconducto. Antes de la administración del irrigante, se colocó una lima Hedström de tamaño 30 estéril en cada conducto contaminado con bacterias con movimiento ascendente y descendente durante 1 minuto y se recogió el contenido del conducto con una micropipeta (muestra S1). La muestra S1 se transfirió a una placa de agar sangre, y se incubó por 24 horas a 37 y 5 % de humedad. Los procedimientos de irrigación se realizaron como se describió previamente para cada grupo respectivo. Después del riego, las muestras se colocaron en placas de agar sangre y se incubaron por 24 horas para observar el crecimiento bacteriano. Posteriormente se realizó un procedimiento de muestreo similar con los otros grupos.

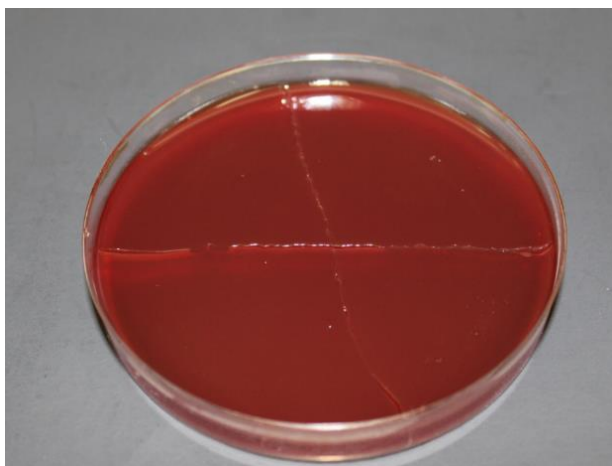


Figura 18. Grupo control negativo. Control negativo después de incubación de 21 días. No se observa crecimiento bacteriano.

RESULTADOS



Figura 19. Grupo control positivo. 5 muestras del grupo control positivo después de la incubación de 21 días. Se observan colonias densas.

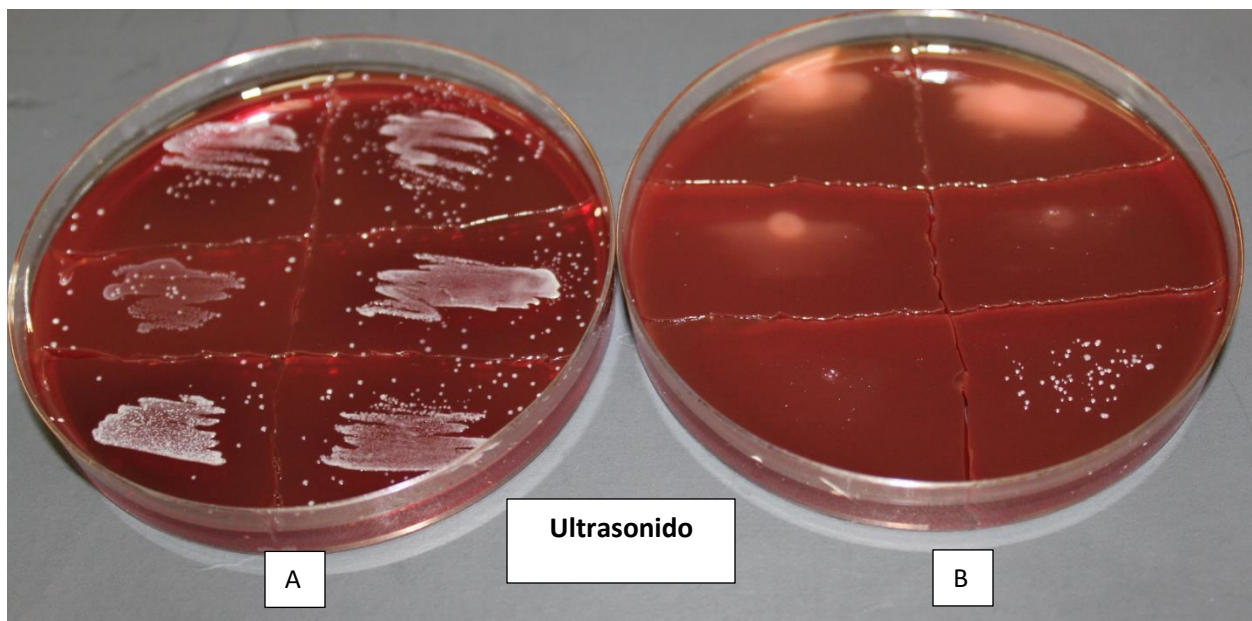


Figura 20. Grupo experimental 1. Ultrasonido. A) Muestras tomadas después de 21 días de incubación a 37°C con 5% de humedad, antes de aplicar los métodos de desinfección. B) Muestras tomadas después de aplicar Ultrasonido+NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06%. Se observa que se redujeron considerablemente el número de colonias de *Enterococcus faecalis*.

RESULTADOS

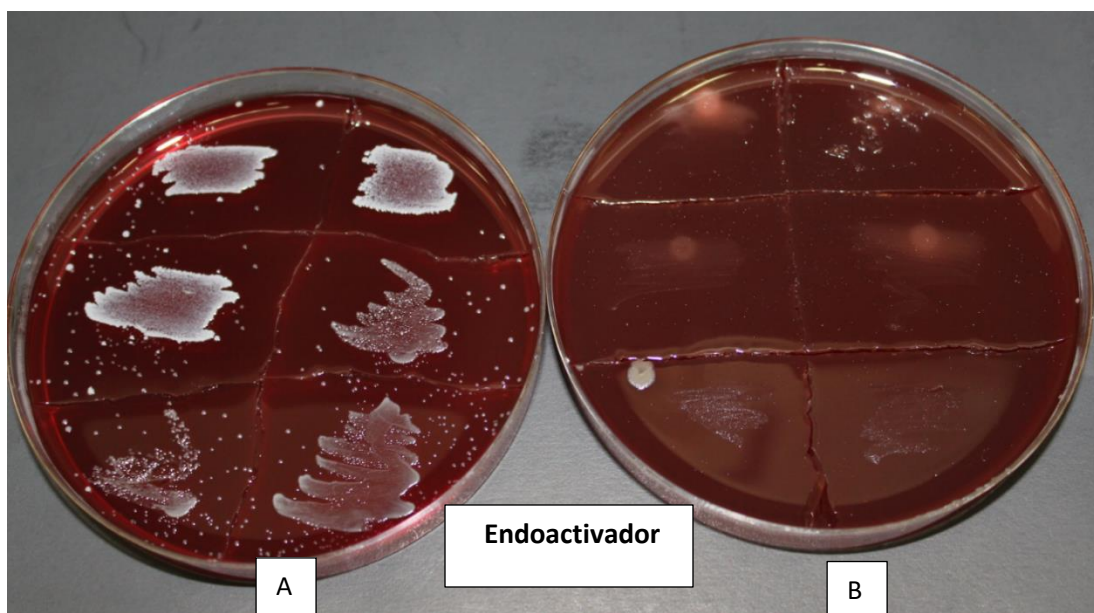


Figura 21. Grupo experimental 2. Endoactivador. A) Muestras tomadas después de 21 días de incubación a 37°C con 5% de humedad, antes de aplicar los métodos de desinfección. B) Muestras tomadas después de aplicar Endoactivador+NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06%. Se observa que se redujeron considerablemente el número de colonias de *Enterococcus faecalis*.

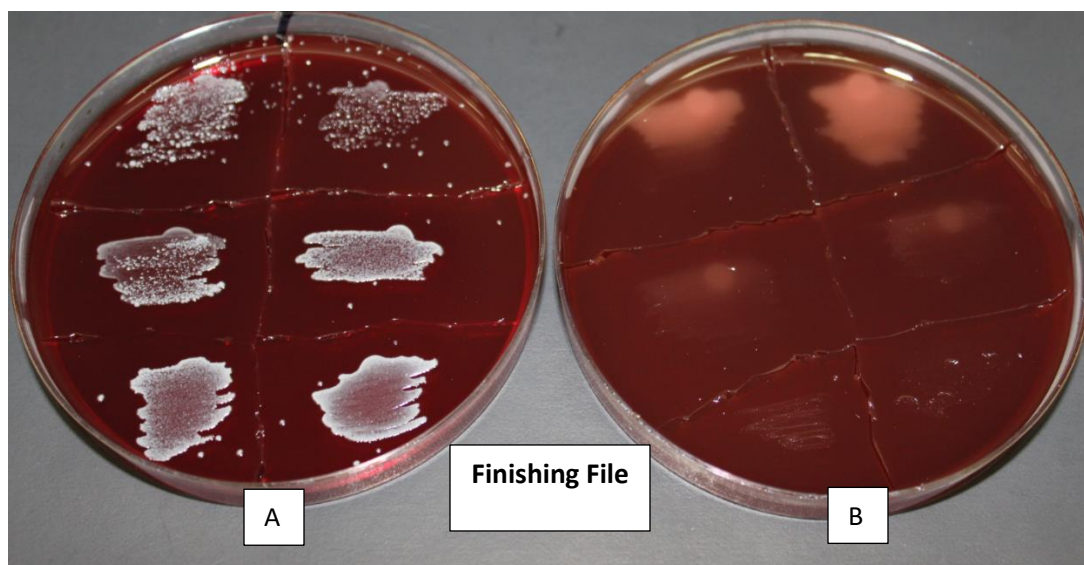


Figura 22. Grupo experimental 3. Finishing File. A) Muestras tomadas después de 21 días de incubación a 37°C con 5% de humedad, antes de aplicar los métodos de desinfección. B) Muestras tomadas después de aplicar Finishing File+NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06%. Se observa que se redujeron considerablemente el número de colonias de *Enterococcus faecalis*.

RESULTADOS

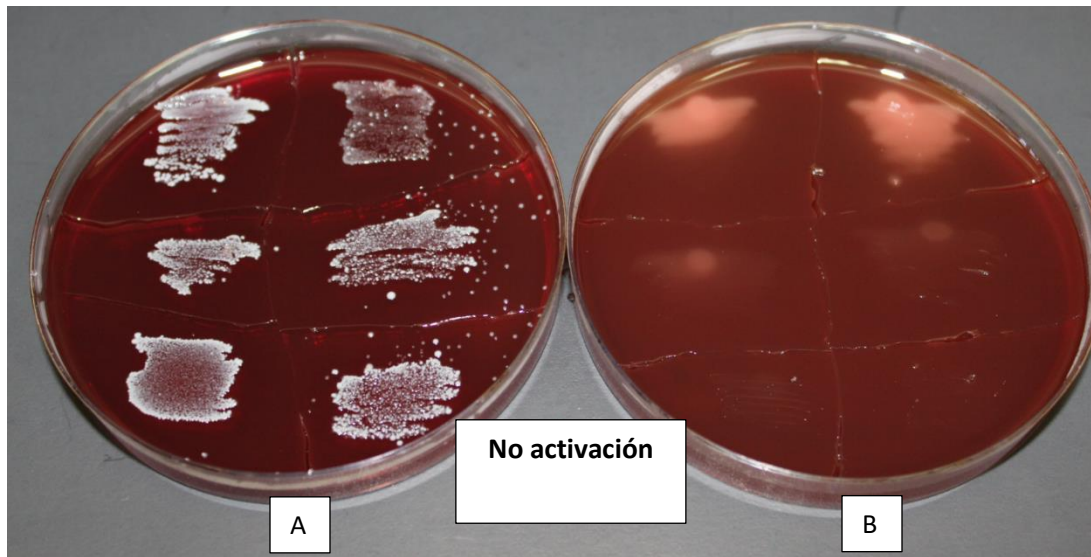


Figura 23. Grupo experimental 4. No activación A) Muestras tomadas después de 21 días de incubación a 37°C con 5% de humedad, antes de aplicar los métodos de desinfección. B) Muestras tomadas después de aplicar NaOCl al 6%, 0.6% y 0.06% por un minuto. Se observa que se redujeron considerablemente el número de colonias de *Enterococcus faecalis*.

RESULTADOS

Tabla 2: Muestra resultados de grupos experimentales.

Método de activación	NaOCl (concentración)	6%		.6%		.06%	
Ultrasónica		No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	Hubo crecimiento bacteriano < 10,000 UFC de E. Faecalis.
Endoactivador		No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano
Finishing file		No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano
No Activación		No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano	No hubo crecimiento bacteriano

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las muestras de los grupos experimentales no presentaron crecimiento bacteriano después de ser tratadas, excepto una de las muestras tratadas con NaOCl al 0.06% activado con ultrasonido, la cual presentó un crecimiento $<10,000$ UFC, como se muestra en la tabla de resultados 2.

DISCUSIÓN

La persistencia de los microorganismos dentro del sistema de conductos radiculares es la causa principal del fracaso posterior al tratamiento (38, 39). Las bacterias remanentes se multiplican exponencialmente en el espacio del conducto en presencia de nutrientes disponibles (40). Debido a la falta de circulación en los conductos radiculares obturados, los componentes del sistema inmunitario adaptativo, incluidos los fagocitos, son incapaces de penetrar más de unos pocos cientos de micrómetros en el espacio del conducto obturado (41). La diseminación de componentes virulentos de bacterias en proliferación dentro del espacio del conducto y los túbulos dentinales a los tejidos perirradiculares y al hueso adyacente puede ocurrir cuando la resistencia del cuerpo del huésped se ve comprometida (42).

Entre las muchas especies de bacterias que se encuentran en los túbulos dentinales de la dentina radicular infectada (43, 44), *Enterococcus faecalis* se ha aislado frecuentemente en dientes con un tratamiento fallido del conducto radicular (45, 46). La propensión de esta especie facultativa de bacterias anaerobias en apical persistente puede atribuirse a su alta tolerancia a los irrigantes y medicamentos intraconducto, a su capacidad para prosperar en un amplio rango de pH y a soportar la privación nutricional, así como a su capacidad para invadir los túbulos dentinales y adherirse al colágeno de la dentina desmineralizada (47,48). Además de su capacidad para penetrar hasta 1,000 µm en los túbulos dentinales (49), el cemento radicular también proporciona un santuario para que los microorganismos participen en reinfecciones posteriores (50). Por lo tanto, *Enterococcus faecalis* se eligió para la infección intraconducto en el presente estudio.

Una gran cantidad de estudios han demostrado el amplio espectro de actividades antimicrobianas de NaOCl a través de la inactivación irreversible de las proteínas esenciales bacterianas, así como su capacidad para expulsar residuos de los conductos radiculares y en la disolución de tejidos orgánicos. El hipoclorito de sodio también es capaz de penetrar los túbulos dentinales; su profundidad de penetración está

DISCUSIÓN

influenciada por la concentración, el tiempo y la temperatura, así como la incorporación de surfactantes en la solución de NaOCl ⁽³³⁾.

Según Carlos Estrella el NaOCl actúa mediante 3 mecanismos:

1. Saponificación: actúa como un solvente orgánico que degrada los ácidos grasos hacia sales ácidas grasas (jabón) y glicerol (alcohol), reduce la tensión superficial de la solución remanente con un pH de 12. (Figura 24)

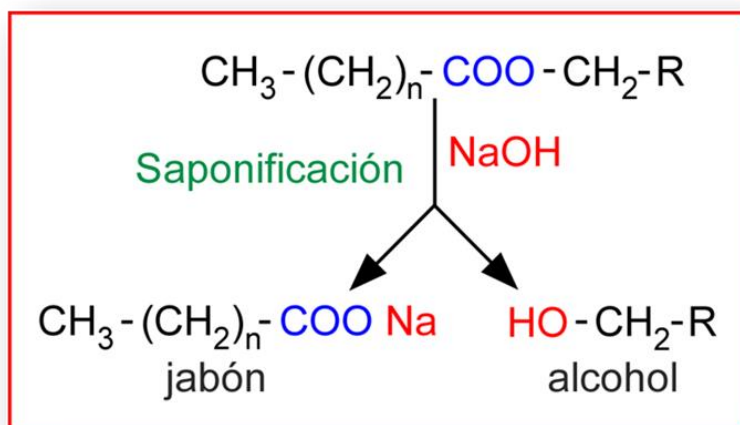


Figura 24. Reacción de saponificación del hipoclorito de sodio al contacto con tejido orgánico.

2. Neutralización: neutraliza aminoácidos formando agua y sal (Figura 25).

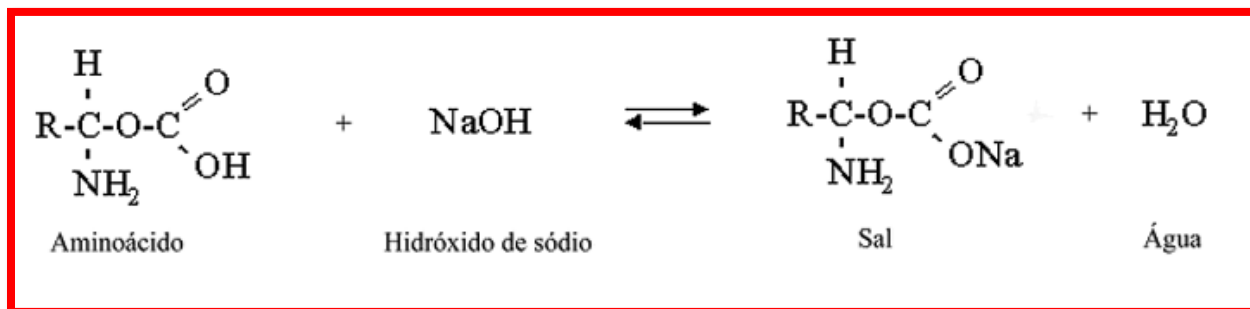


Figura 25. Reacción de neutralización de aminoácidos del hipoclorito de sodio.

3. Cloraminación: la reacción entre el cloro y el grupo amina (NH₂) de los aminoácidos forma cloraminas las cuales interfieren en el metabolismo celular. El cloro, que es un oxidante fuerte, presenta una acción antimicrobiana a través de la inhibición enzimática bacteriana a partir de la oxidación irreversible de los grupos SH (grupo sulfhidrilo) de enzimas bacterianas esenciales (figura 26).

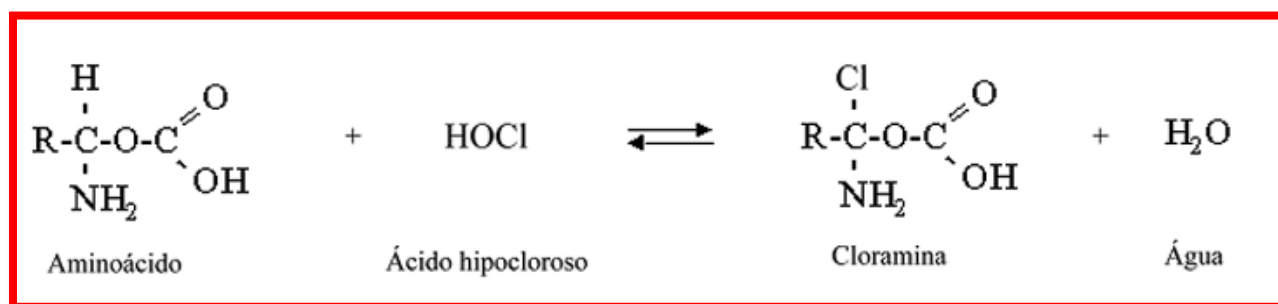


Figura 26. Reacción de cloraminación.

La efectividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio, en parte, y en lo que se refiere a la influencia de los iones de hidroxilo sobre la membrana citoplasmática bacteriana, parece ser similar a la del hidróxido de calcio. El elevado pH del hipoclorito de sodio interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática, promueve alteraciones biosintéticas, con inhibición enzimática irreversible (acción oxidante). Con la formación de cloraminas ocurre interferencia en el metabolismo celular, con oxidación irreversible del grupo sulfhidrilo (SR) de enzimas bacterianas (cisteima). Se puede observar la degradación de ácidos grasos y fosfolípidos por el proceso de peroxidación lipídica (reacción de saponificación) ⁽⁵¹⁾. La activación ultrasónica de los irrigantes funciona mediante distintos mecanismos: oscilación, cavitación, transmisión de microcorriente acústica y generación de calor, los cuales van a producir efectos sobre las estructuras dentarias, especialmente sobre la dentina y la capa de barrillo dentinario,

DISCUSIÓN

así como la potenciación de efectos antimicrobianos al utilizarse en combinación con soluciones irrigantes (26).

El uso de ultrasonidos como ayuda en la irrigación del conducto radicular se ha sugerido como una alternativa para aumentar la limpieza y desinfección del sistema de conductos radiculares (52 , 53 , 9). En un estudio realizado por Grasiela Longhi y cols en 2011 se demostró que el NaOCl con o sin irrigación ultrasónica es totalmente efectivo para eliminar las bacterias del conducto principal. La irrigación ultrasónica con agua destilada mostró una disminución estadísticamente significativa en el recuento de bacterias cuando se comparó con el grupo de control, lo que demuestra que los ultrasonidos tienen un efecto de limpieza, pero deben ser realizados por el irrigante (54). Estos resultados concuerdan con los hallazgos de Siqueira y cols (55) y Bhuvya y cols (56), quienes tampoco encontraron diferencias entre el riego convencional con NaOCl y el riego pasivo ultrasónico que utiliza este irrigante.

La efectividad de la activación ultrasónica parece diferir según el resultado evaluado. Casi todos los estudios, clínicos e in vitro , coincidieron en que la activación ultrasónica es más efectiva que la irrigación con jeringa con respecto a la remoción de restos de tejido pulpar y restos de tejido duro, pero solo alrededor de la mitad de los estudios in vitro encontraron un efecto antimicrobiano superior y el ensayo clínico no pudo detectar ninguna mejora en la cicatrización de la periodontitis apical (57). En un estudio realizado por Chang Zeng y cols en 2018 se comparó la activación sónica del irrigante con puntas EDDY contra jeringa convencional y no había diferencia significativa entre ambos métodos para matar *Enterococcus faecalis* en la dentina profunda (33).

La punta de polímero Finishing File en combinación con NaOCl u otros irrigantes utilizados en endodoncia no se ha comparado en otros estudios en la eliminación de bacterias o debris dentinario. Una de las ventajas que proporciona la activación sónica así como mediante la punta Finishing file, es que podemos colocar las puntas muy cerca del tercio apical, además, no desgastamos incontroladamente dentina a diferencia de la activación ultrasónica en donde es inevitable desgastar dentina .

CONCLUSIONES

1. Se estandarizaron los procesos de extracción dental, infección del conducto radicular y la aplicación de los diferentes métodos de activación del hipoclorito de sodio.
2. La activación del hipoclorito de sodio por Irrigación ultrasónica activa (Various 370-30 KHz), irrigación sónica (Endoactivator- 10 kHz) y por irrigación Finishing file (800 rpm-0.013 kHz) constituye una solución en la eliminación de bacterias en casos de infecciones endodónticas por *Enterococcus faecalis*.
3. Los tres métodos de activación permiten una mayor penetración del hipoclorito de sodio en los túbulos dentinarios y tercio apical debido a la movilidad y calentamiento del mismo.
4. La concentración del hipoclorito de sodio juega un papel importante en la eliminación del *Enterococcus faecalis*.
5. El hipoclorito de sodio al 6% y 0.6% activado con los tres métodos, eliminaron por completo las muestras contaminadas con *Enterococcus faecalis*.
6. El hipoclorito de sodio a una concentración del 0.06%, activado con ultrasonido eliminó por completo las bacterias en una de las muestras y en la otra presentó un crecimiento <10,000 UFC de E. Faecalis.
7. El modelo experimental *in vitro* de la infección del conducto radicular, cumple con los criterios clínicos de un proceso de infección del sistema de conductos, como lo demuestran los resultados microbiológicos reportadas en el presente estudio.

RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de otros métodos de conteo bacteriano como es el ensayo de turbidez, así como el uso de microscopía con focal o de barrido para mejor representación de los resultados.

También se recomienda probar con otros métodos de desinfección más novedosos como son la terapia fotodinámica, desinfección por partículas catalíticas, o con agua eléctricamente activada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Canalda Sahli, C., & Aguadè, B. (2006). Endodoncia: Técnicas clínicas y bases científicas (No. 616.314. 18). Masson,.
2. Vázquez R, Luaña E, Pablo V De, Cabello C. Importancia de la activación de la irrigación durante el tratamiento de conductos: Una revisión de la literatura. 2015;12:61–9.
3. Şen B, Wesselink P, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. Int Endod. 1995;141–8.
4. Rodríguez Benítez, M. S. (2015). Estudio sobre diferentes protocolos de irrigación y medicación intraconducto para la revascularización pulpar en dientes inmaduros y necróticos de perros beagle.
5. Rivera M. Estudio in vitro de la efectividad de las distintas técnicas de irrigación en la eliminación del enterococcus faecalis. 2016;1–214.
6. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of Enterococcus faecalis: relationship to endodontic disease. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine 2004;15(5):308-20.
7. Hansa Jain, Sanjyot Mulay, Peter Mullany, Persistence of endodontic infection and Enterococcus faecalis: Role of horizontal gene transfer, Gene Reports, Volume 5, 2016, Pages 112-116,
8. .Mozo S, Llena C, Forner L. Review of ultrasonic irrigation in endodontics. Increasing action of irrigating solutions. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2012; 17(3): 512-516.
9. Van der S luis LWM, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. Int Endod J 2007; 40: 415–426.

BIBLIOGRAFÍA

10. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2007;104(1):122-30.
11. Rica C, Pinal B. Soluciones para la irrigación en endodoncia: Hipoclorito de sodio y gluconato de clorexidina. *Rev Científica Odontol.* 2007;3(1):14.
12. Zehnder M. Root Canal Irrigants. *J Endod.* 2006;32(5):389–98.
13. Hashimoto K, Kawashima N, Ichinose S, Nara K, Noda S, Okiji T. EDTA Treatment for Sodium Hypochlorite-treated Dentin Recovers Disturbed Attachment and Induces Differentiation of Mouse Dental Papilla Cells. *J Endod.* 2017;1–5.
14. Rivera M. Estudio in vitro de la efectividad de las distintas técnicas de irrigación en la eliminación del enterococcus faecalis. 2016;1–214.
15. Krishnan U, Saji S, Clarkson R, Lalloo R, Moule AJ. Free Active Chlorine in Sodium Hypochlorite Solutions Admixed with Octenidine, SmearOFF, Chlorhexidine, and EDTA. *J Endod.* 2017;43(8):1354–9.
16. Bao P, Shen Y, Lin J, Haapasalo M. In Vitro Efficacy of XP-endo Finisher with 2 Different Protocols on Biofilm Removal from Apical Root Canals. *J Endod.* 2016;1–5.
17. Gu LS, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley Dh, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *J Endod* 2009; 35(6): 791-804
18. Machtou P. Irrigation investigation in endodontics. Paris VII university, Paris, France: Masters thesis; 1980.

BIBLIOGRAFÍA

19. Caron G. Cleaning efficiency of the apical millimeters of curved canals using three different modalities of irrigant activation: an SEM study. Paris VII university, Paris, France: Masters thesis; 2007.
20. Fimple JL, Fontana CR, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis TC, Tanner AC, Kent R, Doukas AG, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. J Endod 2008; 34: 728-734.
21. Soukos NS, Chen PS, Morris JT, Ruggiero K, Abernethy AD, Som S, Foschi F, Doucette S, Bammann LL, Fontana CR, Doukas AG, Stashenko PP. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. J Endod 2006; 32: 979-984
22. J. Dutner, P. Mines, A. Anderson Irrigation trends among American Association of Endodontists members: a web-based survey J Endod, 38 (2012), pp. 37-40
23. Willers hausen, T.G. Wolf, I. Schmidtman, et al. Survey of root canal irrigating solutions used in dental practices within Germany Int Endod J, 48 (2015), pp. 654-660
24. R.N. Weller, J.M. Brady, W.E. Bernier Efficacy of ultrasonic cleaning J Endod, 6 (1980), pp. 740-743
25. S.A. Jensen, T.L. Walker, J.W. Hutter, B.K. Nicoll Comparison of the cleaning efficacy of passive sonic activation and passive ultrasonic activation after hand instrumentation in molar root Canals J Endod, 25 (1999), pp. 735-738
26. Ultrasonido en Endodoncia " por Enrique J. Padrón Odontólogo, Universidad Central de Venezuela , 1998. Especialista en Endodoncia, Universidad Central de Venezuela, 2001-2003 (2006)
27. NSK. <http://www.nskdental.com>
28. Dumani, H.K. Guvenmez, S. Yilmaz, O. Yoldas, Z.G.B. Kurklu Antibacterial efficacy of calcium hypochlorite with Vibringe sonic irrigation system on *Enterococcus faecalis*: an in vitro study Biomed. Res. Int., 2016 (2016), p. 8076131

BIBLIOGRAFÍA

29. R. Macedo, B. Verhaagen, D.F. Rivas, M. Versluis, P. Wesselink, L. van der Sluis
Cavitation measurement during sonic and ultrasonic activated irrigation J. Endod., 40 (2014), pp. 580-583
30. M. Ahmad, T.R. Pitt Ford, L.A. Crum + Ultrasonic debridement of root canals: an insight into the mechanisms involved J. Endod., 13 (1987), pp. 93-101
31. Sabins RA JJ, Hellstein JW. A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar canals.
32. www.engineeredendo.com
33. Chang Zeng, Jon Willison, Mohamed M. Meghil, Brian E. Bergeron, Christopher W. Cutler, Franklin R. Tay, Lina Niu, Jingzhi Ma, Antibacterial efficacy of an endodontic sonic-powered irrigation system: An in vitro study, Journal of Dentistry, Volume 75, 2018, Pages 105-112,
34. Costerton JW SP, Greenberg EP. Bacterial biofilms; a common cause of persistent infections. Science. 1999;284:1318-22.
35. McHugh C ZP, Michalek S, Eleazer P. PH required to kill Enterococcus faecalis in vitro. J Endod. 2004;30(218-9).
36. Juliane M. Guerreiro-Tanomaru, Renata D. Morgental, Danilo L. Flumignan, Fabricia Gasparini, José E. Oliveira, Mário Tanomaru-Filho, Evaluation of pH, available chlorine content, and antibacterial activity of endodontic irrigants and their combinations against Enterococcus faecalis, Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, Volume 112, Issue 1, 2011, Pages 132-135
37. B.C. Dalton, D. Orstavik, C. Phillips, M. Pettiette, M. Trope Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation J Endod, 24 (1998), pp. 763-767
38. M. Haapasalo, T. Udnæs, U. Endal Persistent, recurrent, and acquired infection of the root canal system post treatment Endod Top., 6 (2003), pp. 29-56

BIBLIOGRAFÍA

39. P.N. Nair On the causes of persistent apical periodontitis: a review *Int. Endod. J.*, 39 (2006), pp. 249-281
40. S. Iyer
Biswas, C.S. Wright, J.T. Henry, K. Lo, S. Burov, Y. Lin, G.E. Crooks, S. Crosson, A.R. Dinner, N.F. Scherer Scaling laws governing stochastic growth and division of single bacterial cells *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 111 (2014) (2014), pp. 15912
41. C.L. Hahn, F.R. Liewehr Update on the adaptive immune responses of the dental pulp *J. Endod.*, 33 (2007), pp. 773-781
42. M. Zehnder, G.N. Belibasakis On the dynamics of root canal infections-what we understand and what we don't *Virulence*, 6 (2015), pp. 216-222
43. K. Subramanian, A.K. Mickel Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile *J. Endod.*, 35 (2009), pp. 950-957
44. J.L. Brittan, S.V. Sprague, E.L. Macdonald, R.M. Love, H.F. Jenkinson, N.X. West In vivo model for microbial invasion of tooth root dentinal tubules *J. Appl. Oral Sci.*, 24 (2016), pp. 126
45. G. Sundqvist, D. Figdor, S. Persson, U. Sjögren Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 85 (1998), pp. 86-93
46. Q.Q. Wang, C.F. Zhang, C.H. Chu, X.F. Zhu Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis *Int. J. Oral Sci.*, 4 (2012), pp. 19-23
47. R.M. Love. *Enterococcus faecalis*—a mechanism for its role in endodontic failure *Int. Endod. J.*, 34 (2001), pp. 399-405
48. C.H. Stuart, S.A. Schwartz, T.J. Beeson, C.B. Owatz. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment *J. Endod.*, 32 (2006), pp. 93-98

BIBLIOGRAFÍA

49. N.A. Vatkar, V. Hegde, S. Sathe Vitality of *Enterococcus faecalis* inside dentinal tubules after five root canal disinfection methods J. Conserv. Dent., 19 (2016), pp. 445-459
50. R.S. Halkai, M.N. Hegde, K.R. Halkai Evaluation of *Enterococcus faecalis* adhesion, penetration, and method to prevent the penetration of *Enterococcus faecalis* J. Conserv. Dent., 19 (2016), pp. 541-548
51. Carlos Estrela. Ciencia endodóntica. Primera edición. 2005.
52. G. Plotino, C. Pameijer, N.M. Grande, F. Somma Ultrasonics In endodontics: a review of the literature J Endod, 33 (2007), pp. 81-95
53. P. Spoleti, M. Siragusa, M.J. Spoleti Bacteriological evaluation of passive ultrasonic activation J Endod, 29 (2003), pp. 12-14
54. Grasiela Longhi Gründling, Janaína Guzzo Zechin, Wagner Mariano Jardim, Sílvia Dias de Oliveira, José Antônio Poli de Figueiredo, Effect of Ultrasonics on *Enterococcus faecalis* Biofilm in a Bovine Tooth Model, Journal of Endodontics, Volume 37, Issue 8, 2011, Pages 1128-1133,
55. J.F. Siqueira, A.G. Machado, R.M. Silveira, H.P. Lopes, M. Uzeda Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro Int Endod J, 30 (1997), pp. 279-282
56. Petruța E. Căpută, Anastasios Retsas, Lydwien Kuijk, Luis E. Chávez de Paz, Christos Boutsoukis, Ultrasonic Irrigant Activation during Root Canal Treatment: A Systematic Review, Journal of Endodontics, Volume 45, Issue 1, 2019, Pages 31-44.e13
57. Anastasios Retsas, Anastasios Koursoumis, Nestor Tzimpoulas, Christos Boutsoukis, Uncontrolled Removal of Dentin during In Vitro Ultrasonic Irrigant Activation in Curved Root Canals, Journal of Endodontics, Volume 42, Issue 10, 2016, Pages 1545-1549,