



**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO  
Programa de Doctorado Ciencias de la Salud

Efectos sobre la disolución de tejido orgánico al  
combinar hipoclorito sódico y Keratobacter®

Autor:

Alejandro Peña López

Directores:

Dr. D. José Manuel Granero Marín

Dr. D. Roberto Estévez Luaña

Murcia, Junio de 2021





**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO  
Programa de Doctorado Ciencias de la Salud

Efectos sobre la disolución de tejido orgánico al  
combinar hipoclorito sódico y Keratobacter®

Autor:

Alejandro Peña López

Directores:

Dr. D. José Manuel Granero Marín

Dr. D. Roberto Estévez Luaña

Murcia, Junio de 2021





# UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

## AUTORIZACIÓN DE L/OS DIRECTOR/ES DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. José Manuel Granero Marín y el Dr. D. Roberto Estévez Luaña como Directores de la Tesis Doctoral titulada “Efectos sobre la disolución de tejido orgánico al combinar hipoclorito sódico y Keratobacter®” realizada por D. Alejandro Peña López en el Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud, **autoriza su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011, 1393/2007, 56/2005 Y 778/98, en Murcia a 3 de Junio de 2021

Dr. D. José Manuel Granero Marín

Dr. D. Roberto Estévez Luaña



## AGRADECIMIENTOS

A mis padres, que me dieron la vida y gracias a sus esfuerzos he podido hacer cosas que ni tan siquiera soñaba.

A Ana, que me alegra cada momento con su optimismo, constante apoyo y amor.

A mi hermano, que es parte inseparable de mí y siempre lo será. Amigo y consejero.

A mis abuelos, por estar tan presentes en mi niñez y darme amor incondicional.

A Roberto Estévez, por inculcarme el gusanillo de la endodoncia y por haber sido un referente y apoyo. Si no lo hubiera conocido, no habría realizado esta fantástica especialidad.

A los amigos que me ha dado la endodoncia: Oliver, Carlos, Javi, Toni, Óscar... y principalmente a Alberto Sierra. Gracias por estar siempre ahí y ejercer de hermano mayor.

A Ana Romero, por regalarme tantos años de la más sana amistad. A Juanillo, por alegrarme todas las mañanas durante un año entero y enseñarme a relativizar la vida.

A Yolanda Getino, por ser un faro, un ejemplo y darme siempre los mejores consejos.

A Rafael Cisneros, porque él creó algo que nos ha hecho a muchísimas personas felices sintiéndonos parte de una familia.

A Pepe Cabanes por haber contestado cada llamada, por haberme explicado cada duda y ser parte fundamental de este trabajo.

A José Manuel y Aldo, por creer en mí y darme una oportunidad.

A la endodoncia, por haberme dado tanto.





"La inspiración existe, pero tiene que encontrarte  
trabajando". Pablo Ruiz Picasso (1881-1973).



## RESUMEN

Las bacterias han sido reconocidas como el principal factor etiológico en el desarrollo de las enfermedades pulpares y periapicales. El objetivo del tratamiento de conductos es prevenir o curar la periodontitis apical. Parte del éxito de la endodoncia va a depender de la eliminación del tejido pulpar, tanto vital como necrótico, que se encuentra situado dentro del sistema de conductos radiculares.

Los irrigantes que se utilizan en endodoncia deberían tener la capacidad de disolver los remanentes pulpares, ya que la remoción del tejido pulpar únicamente con la instrumentación mecánica es insuficiente debido a la compleja morfología de los sistemas de conductos. El hipoclorito sódico (NaOCl) es recomendado como principal irrigante por su capacidad antimicrobiana, para prevenir la formación de barrillo dentinario y disolver su parte orgánica, así como la disolución de tejido orgánico remanente. La literatura indica que no existe el irrigante ideal y para cumplir con los objetivos de la irrigación debemos combinar el uso de hipoclorito sódico con el de otros irrigantes. La combinación de sustancias irrigadoras más empleada es hipoclorito sódico y EDTA como agente quelante.

La bibliografía estudiada expone que el tiempo y el volumen son dos factores importantes que afectan a la capacidad de deglutir tejido orgánico del hipoclorito sódico. El objetivo de este trabajo fue comparar la capacidad de disolver tejido orgánico del hipoclorito sódico como agente único de irrigación respecto a la combinación de Keratobacter® e hipoclorito sódico. De esta forma valoraremos las aplicaciones clínicas que se pueden obtener de esta combinación de soluciones irrigadoras y así crear unas pautas efectivas para mejorar la disolución de tejido orgánico en la terapia endodóntica.

Palabras clave: Pulpa dental, disolución, ácido glicólico, hipoclorito sódico, surfactantes.



## ABSTRACT

Bacterias have been recognized as the main etiological factor in the development of pulp and periapical diseases. The goal of root canal treatment is to prevent or cure apical periodontitis. Part of the success of endodontics will depend on the removal of the pulp tissue, both vital and necrotic, that is located within the root canal system.

Irrigants used in endodontics should have the ability to dissolve the remaining pulp tissue, as the removal of pulp tissue with mechanical instruments alone is insufficient due to the complex morphology of the canal systems. Sodium hypochlorite (NaOCl) is recommended as the main irrigant due to its antimicrobial capacity, to prevent the formation of smear layer and dissolve its organic part, as well as the dissolution of remaining organic tissue. The literature indicates that there is no ideal irrigant, and in order to fulfill the irrigation objectives we must combine the use of sodium hypochlorite with other irrigants. The most commonly used combination of irrigation substances is sodium hypochlorite and EDTA as a chelating agent.

The literature studied shows that time and volume are two important factors that affect the ability to swallow organic tissue of sodium hypochlorite. The objective of this study was to compare the ability to dissolve organic tissue of sodium hypochlorite as a single irrigation agent to the combination of Keratobacter® and sodium hypochlorite. In his way we will evaluate the clinical applications that can be obtained from this combination of irrigation solutions and thus create effective guidelines to improve the dissolution of organic tissue, whose permanence in the canal system can lead to persistent apical periodontitis and therefore to the failure of endodontic treatment.

Keywords: Dental pulp, dissolution, glycolic acid, sodium hypochlorite, surfactants.



## ÍNDICE

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES	
AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
ÍNDICE	
SIGLAS Y ABREVIATURAS.....	19
ÍNDICE DE FIGURAS.....	21
ÍNDICE DE TABLAS.....	27
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	29
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>31</b>
1.1. BACTERIAS Y PERIODONTITIS APICAL.....	33
1.2. ANATOMÍA DE LOS SISTEMAS DE CONDUCTOS.....	42
1.3. IRRIGACIÓN EN ENDODONCIA Y SOLUCIONES IRRIGANTES .....	49
1.3.1. Hipoclorito de sodio .....	51
1.3.2. Clorhexidina .....	60
1.3.3. Ácido etilendiaminotetraacético.....	62
1.3.4. Ácido etidróico .....	65
1.3.5. Keratobacter® .....	66
1.4. INTERACCIONES ENTRE SOLUCIONES IRRIGANTES .....	68
1.4.1. NaOCl - CHX .....	68
1.4.2. NaOCl - EDTA .....	69
1.4.3. CHX - EDTA .....	70
1.5. TÉCNICAS DE IRRIGACIÓN .....	71
1.5.1. Irrigación por presión positiva .....	72
1.5.2. Irrigación por presión negativa .....	75
1.5.3. Activación de la irrigación .....	81
1.6. FACTORES QUE AFECTAN A LA EFICACIA DEL NaOCl.....	92
1.6.1. Concentración y temperatura .....	92
1.6.2. pH .....	94

1.6.3. Características del sistema de conductos .....	96
1.6.4. Agujas de irrigación .....	98
1.6.5. Patency .....	100
1.6.6. Agentes tensoactivos .....	102
<b>CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>105</b>
2.1. INTERÉS DEL ESTUDIO .....	107
<b>CAPÍTULO III: OBJETIVOS .....</b>	<b>109</b>
3.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....	111
3.2. OBJETIVOS .....	111
<b>CAPÍTULO IV: MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>113</b>
4.1. ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO .....	115
4.2. TIPO DE ESTUDIO .....	115
4.3. SELECCIÓN DE MUESTRAS .....	115
4.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN .....	116
4.4.1. Tejido de paladar porcino .....	116
4.5. RECURSOS .....	116
4.5.1. Recursos humanos.....	116
4.5.2. Variables empleadas .....	116
4.5.3. Recogida de datos .....	117
4.6. DESARROLLO DEL ESTUDIO .....	117
4.6.1. Extracción de las muestras de paladar porcino .....	117
4.6.2. Tipo de báscula, especificaciones y calibración .....	118
4.6.3. Protocolo de pesado .....	120
4.6.3.1. Selección del fragmento porcino a irrigar .....	120
4.6.4. Protocolo de irrigación .....	122
4.6.5. Medición de la temperatura y pH de las soluciones irrigadoras .....	125
4.6.6. Análisis estadístico .....	129
4.6.6.1. Análisis descriptivo .....	129
4.6.6.2. Análisis de la varianza con medidas repetidas de un factor .....	129
<b>CAPÍTULO V: RESULTADOS .....</b>	<b>131</b>
5.1. RESULTADOS GLOBALES .....	133



5.2. RESULTADOS POR GRUPO .....	135
5.2.1. Grupo 1 (NaOCl) .....	135
5.2.2. Grupo 2 (NaOCl + KB) .....	137
5.2.3. Grupo 3 (Control) .....	140
5.2.4. Grupo 4 (KB) .....	142
5.3. RESULTADOS ENTRE GRUPOS .....	144
5.4. RESULTADOS EVALUACIÓN CAMBIO DE TEMPERATURA .....	147
5.5. RESULTADOS EVALUACIÓN CAMBIOS DE PH .....	148
<b>CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN .....</b>	<b>149</b>
6.1. DISCUSIÓN DE LA METODOLOGÍA .....	155
6.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS .....	199
<b>CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES .....</b>	<b>213</b>
<b>CAPÍTULO VIII: LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>217</b>
<b>CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>221</b>
<b>CAPÍTULO X: ANEXOS .....</b>	<b>281</b>
10.1. DOCUMENTACIÓN ESTADÍSTICAS .....	283



## SIGLAS Y ABREVIATURAS

NaOCl: Hipoclorito de sodio

NaOH: Hidróxido de sodio

HOCl: Ácido hipocloroso

OH: Ión hidroxilo

OCl: Ión hipoclorito

NH: Grupo amino

SH: Grupo sulfhidrilo

E. Faecalis: Enterococcus Faecalis

CHX: Clorhexidina

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

HEBP: Etidronato o ácido etidrónico

KP®: Keratobacter

KB: Keratobacter

Ca(OH)<sub>2</sub>: Hidróxido de calcio

MDA: Manual Dynamic Activation

UI: Ultrasonic Irrigation

PUI: Passive Ultrasonic irrigation

UAI: Ultrasonic Activation Irrigation

CUI: Continous Ultrasonic irrigation

Seg: Segundos

Min: Minutos

AD: Agua Destilada

g: Gramos

mg: Miligramos

rpm: Revoluciones por minuto

AG: Ácido Glicólico



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Inflamación, necrosis e infección de la pulpa a partir de la exposición a la caries (A), hasta la formación de una periodontitis apical (D) (Siqueira y Rôças 2011) .....	34
Figura 2: Porcentaje de bacterias aisladas en dientes con periodontitis apical crónica (Siqueira 2008) .....	35
Figura 3: Fotografía con microscopio electrónico de barrido de la dentina mostrando sus irregularidades (Basrani y cols. 2015) .....	37
Figura 4: Biopelícula bacteriana en conducto necrótico y ramificación lateral (Ricucci y Siqueira 2008) .....	38
Figura 5: A, Infección bacteriana en conducto principal que se dispersa hacia istmo. B, Istmo obstruido por bacterias (Ricucci y Siqueira 2008) .....	38
Figura 6: Periodontitis apical debido a una infección intrarradicular primaria. La pulpa necrótica y el tamaño de la lesión es directamente proporcional a la complejidad de la microbiota implicada .....	39
Figura 7: Infección en las paredes de un conducto radicular. Se observan cocos y pequeños bacilos. Los cocos están penetrando en los túbulos dentinarios (Siqueira y cols. 2002) .....	40
Figura 8: Micro-CT. Las diferentes densidades radiográficas de los tejidos dentales facilitan su segmentación, que puede utilizarse para crear modelos tridimensionales (Versiani y cols. 2015) .....	44
Figura 9: Los conductos accesorios adoptan tres patrones distintos en los primeros molares inferiores. A) 13% conducto de furcación. B) 23% un conducto lateral. C) 10% conductos laterales y en zona furca (Vertucci y Haddix 2011) ..	46
Figura 10: Diferentes configuraciones de sistemas de conductos correspondientes a primeros molares mandibulares (de Pablo y cols. 2010).....	48
Figura 11: Mecanismo de acción del hipoclorito sódico (Pécora y cols. 1999)...	52

Figura 12: Reacción de Saponificación (Pécora y cols. 1999) .....	53
Figura 13: Reacción de Neutralización (Pécora y cols. 1999) .....	53
Figura 14: Reacción de Cloraminación (Pécora y cols. 1999) .....	54
Figura 15: Sistema modular para el seguro y eficiente llenado de las jeringas de irrigación (Coltene Whaledent, Atstätten, Suiza) .....	58
Figura 16: CHX debe ser guardada en un contenedor oscuro para preservar su actividad (Basrani y Haapasalo 2012) .....	60
Figura 17: Erosión de la superficie de la pared del conducto radicular después de utilizar EDTA seguido de hipoclorito sódico .....	64
Figura 18: Figura visual de las interacciones entre a) 5.25% NaOCl y 2% CHX; b) 0.16% NaOCl y 2% CHX; c) 17% EDTA y 2% CHX (Prado y cols. 2013) .....	69
Figura 19: La mezcla de EDTA y CHX forma un precipitado blanco (Rasimick y cols. 2008) .....	70
Figura 20: Jeringas de irrigación con capacidad variable (de arriba abajo: 10, 12, 5, 2.5 mL) con rosca de seguridad tipo Luer-Lock (Boutsioukis y van der Sluis 2015) .....	73
Figura 21: Atrapamiento de burbujas en zona apical de conductos de diámetro 50 y conicidad 0.4. Irrigante suministrado a través de aguja de extremo cerrado 30G a un flujo de 0.083 o 0.260 mL/s (Boutsioukis y cols. 2014) .....	75
Figura 22: Consecuencias de accidente causado por hipoclorito sódico a través del ápice del diente 2.5. Fotografía 3 días después del accidente .....	76
Figura 23: Diferentes partes del sistema EndoVac®. A) MDT y macrocánula unidas al sistema de tubos de aspiración. B) Macrocánula. C) Microcánula. D) MDT (Nielsen y Baumgartner 2007).....	78

Figura 24: Microcánula de acero inoxidable. La punta de la microcánula (ampliación) presenta 12 agujeros de 100 $\mu$ m que se extienden en un área de entre 0.2 - 0.7 mm del extremo esférico de la cánula (Desai e Himel 2009) .....	79
Figura 25: Sistema CANUI. A) Flujo inicial de irrigante a través del dispositivo, y B) flujo y aspiración del irrigante simultáneamente (Castelo-Baz y cols. 2017).....	80
Figura 26: Aguja NaviTip FX® (Ultradent Products Inc, South Jordan, UT).....	83
Figura 27: Agitación del cono de gutapercha e interrupción del vapor-lock (Machtou 2015).....	84
Figura 28: EndoActivator® con puntas poliméricas adjuntas (Dentsply Sirona, York, Pensilvania, Estados Unidos) .....	87
Figura 29: Corriente acústica alrededor de una lima (izquierda) y un dibujo esquemático modificado del trabajo de Ahmad y cols. del año 1992 (van der Sluis 2007).....	89
Figura 30: a) Corriente acústica generada alrededor de una lima de movimiento libre y b) dentro de un espacio de un conducto radicular simulado (Ahmad y cols. 1992) .....	90
Figura 31: Situación clínica donde podemos observar el aditamento ultrasónico realizando un procedimiento de activación ultrasónica pasiva (PUI) o activación ultrasónica de la irrigación (UAI) .....	91
Figura 32: Comparación del grado de disolución tisular conseguido por la solución de NaOCl a diferentes temperaturas y concentraciones (Haapasalo y cols. 2014) .....	93
Figura 33: a) Conductos accesorios conectan la cámara pulpar con el ligamento periodontal en la zona furcal de un canino birradicular mandibular. b) Compleja anatomía de un premolar con istmos, conductos accesorios y deltas apicales (Ordinola-Zapata y cols. 2019) .....	97

Figura 34: Diferentes tipos de agujas 30G. Agujas de extremo abierto: A) plana, B) biselada, C) mellada o de muesca. Agujas de extremo cerrado: D) salida lateral, E) doble salida lateral, F) multiventana (Boutsioukis y cols. 2010).....	98
Figura 35: Especificaciones de las agujas médicas según ISO 9626:1991/Amd. 1:2001 y el tamaño correspondiente de los instrumentos endodónticos finales (Boutsioukis y van der Sluis 2015) .....	99
Figura 36: El instrumento penetra en el foramen apical más pequeño, al que en ocasiones es más fácil acceder por una ruta directa; la abertura apical más grande permanece sin instrumentar (Hülsmann y Schäfer 2009) .....	101
Figura 37: Alfa = ángulo de contacto .....	102
Figura 38: Bote de 60 mL con la solución irrigadora QMIx (Dentsply Sirona, York, Pensilvania, Estados Unidos) .....	104
Figura 39: Obtención de muestra de espesor total de mucosa palatina porcina mediante bisturí circular de 5.2 mm de diámetro .....	117
Figura 40: Muestras de mucosa palatina porcina recién obtenidas .....	118
Figura 41: Microbalanza de alta precisión Sartorius AG BP 61S con habitáculo cerrado de cristal .....	119
Figura 42: Microtubo con tejido porcino siendo pesado en la microbalanza de precisión .....	121
Figura 43: Vaso de precipitado con una muestra de mucosa palatina porcina correspondiente al grupo CanalPro NaOCl 6% y KP® 9:1 vol/vol (NaOCl + KB) .....	123
Figura 44: Vaso de precipitado con una muestra de mucosa palatina porcina correspondiente al grupo NaOCl (CanalPro NaOCl 6%) .....	124



Figura 45: Medición de la temperatura de Keratobacter® .....	125
Figura 46: Medición de la temperatura de la solución de NaOCl .....	126
Figura 47: Calibración medidor de pH .....	127
Figura 48: Medición de pH de Keratobacter® .....	127
Figura 49: Valor numérico del pH del NaOCl (Canal Pro NaOCl 6%) .....	128
Figura 50: Valor numérico del pH de Keratobacter® .....	128



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características de la solución irrigante ideal (Basrani y Haapasalo 2012).....	50
Tabla 2: Características del NaOCl (Basrani y Haapasalo 2012) .....	56
Tabla 3: Estadísticas descriptivas del grupo 1 (NaOCl) .....	135
Tabla 4: Coeficientes del grupo 1 (NaOCl) .....	137
Tabla 5: Estadísticas descriptivas del grupo 2 (NaOCl + KB) .....	137
Tabla 6: Coeficientes del grupo 2 (NaOCl + KB) .....	139
Tabla 7: Estadísticas descriptivas del grupo 3 (Control) .....	140
Tabla 8: Coeficientes del grupo 3 (Control) .....	141
Tabla 9: Estadísticas descriptivas del grupo 4 (KB) .....	142
Tabla 10: Coeficientes del grupo 4 (KB) .....	143
Tabla 11: El peso medio de las muestras ( $\pm$ Desviación estándar) expresado en mg después de los diferentes periodos de incubación .....	144
Tabla 12: Medición de la temperatura de las diferentes soluciones empleadas a lo largo del tiempo. La temperatura es expresada en grados centígrados ( $^{\circ}$ C) .....	147
Tabla 13: Medición del pH de las diferentes soluciones empleadas. Medimos también el pH del EDTA por sus propiedades similares al Keratobacter® ...	148
Tabla 14: Clasificación de los trabajos estudiados según el origen del tejido y su localización .....	158
Tabla 15: Clasificación de los trabajos estudiados según el tiempo de exposición .....	165

Tabla 16: Clasificación de los trabajos estudiados según la concentración de las soluciones .....	173
Tabla 17: Clasificación de los trabajos estudiados según la temperatura de las soluciones .....	177
Tabla 18: Clasificación de los trabajos estudiados según la técnica de agitación	184
Tabla 19: Clasificación de los trabajos estudiados según el tamaño y/o peso de la muestra .....	187
Tabla 20: Clasificación de los trabajos estudiados según el volumen de solución empleado .....	190
Tabla 21: Clasificación de los trabajos estudiados según el pH empleado .....	195

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Cambios de peso después de cada grupo de irrigación expresada en gramos .....	134
Gráfica 2: Evolución en el tiempo de las medias del peso en grupo 1 (NaOCl)	136
Gráfica 3: Evolución en el tiempo de las medias del peso en grupo 2 (NaOCl + KB) .....	138
Gráfica 4: Evolución en el tiempo de las medias del peso en grupo 3 (Control)	140
Gráfica 5: Evolución en el tiempo de las medias del peso en grupo 4 (KB) .....	142
Gráfica 6: Comparación de la evolución en el tiempo de las medias del peso entre los 4 grupos de estudio .....	146



# I. INTRODUCCIÓN





## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. BACTERIAS Y PERIODONTITIS APICAL

Uno de los principales propósitos de los tratamientos de endodoncia es la desinfección del sistema de conductos radiculares y prevenir su reinfección. Las infecciones de los conductos radiculares son polimicrobianas y comprenden bacterias anaerobias y facultativas (Nair,1987). Parte del éxito del tratamiento de conductos va a depender de la eliminación del tejido pulpar, tanto vital como necrótico, que se encuentra situado dentro del conducto radicular; así como la reducción máxima de la carga bacteriana (Grossman 1941). Las bacterias han sido reconocidas como el principal factor etiológico en el desarrollo de las enfermedades pulpares y periapicales (Miller 1894). En el sistema de conductos radiculares, la infección del tejido de la pulpa causada por la caries o por otras vías es la principal causa de la periodontitis apical (Sundqvist 1976, Moller 1981). Kakehashi y cols. (1965) observaron que se desarrollaban necrosis de la pulpa e inflamación perirradicular en ratas normales cuando las pulpas dentales eran expuestas a los microorganismos bucales. Sin embargo, las ratas de laboratorio libres de gérmenes no sufrían necrosis pulpar ni inflamación perirradicular cuando las pulpas de los dientes se expusieron al entorno oral y se rellenaron con restos de comida estériles. En el ser humano se produce una respuesta similar. Se han utilizado cultivos bacterianos y se ha comprobado que los dientes del ser humano que sufren traumatismos con las coronas intactas y pulpas necróticas sin contaminación bacteriana no mostraban indicios radiográficos de destrucción ósea periapical. En contraposición, cuando se aislaron bacterias en los dientes con traumatismos, coronas intactas y pulpas necróticas si se observaron indicios de lesiones radiolúcidas perirradiculares (Sundqvist 1976). Analizando la bibliografía existente encontramos una gran cantidad de referencias las cuales sugieren que las bacterias constituyen el principal factor etiológico en el desarrollo de la periodontitis apical.

En el estudio epidemiológico de la periodontitis apical llevado a cabo por Orstavik y cols. (2008) se observa una discrepancia en cuanto a la prevalencia de la periodontitis apical entre los sujetos de 20 a 30 años (prevalencia del 33%), 30 a 40 años (40%), 40 a 50 años (48%), 50 a 60 años (57%) y mayores de 60 años (62%). Según diversos estudios la periodontitis apical es una enfermedad con una prevalencia alta (Fidgor 2002) como demuestra la encuesta realizada por la American Dental Association (1990) en la cual nos indicaba que sólo en Estados Unidos se realizaron en dicho año 14 millones de tratamientos de conductos

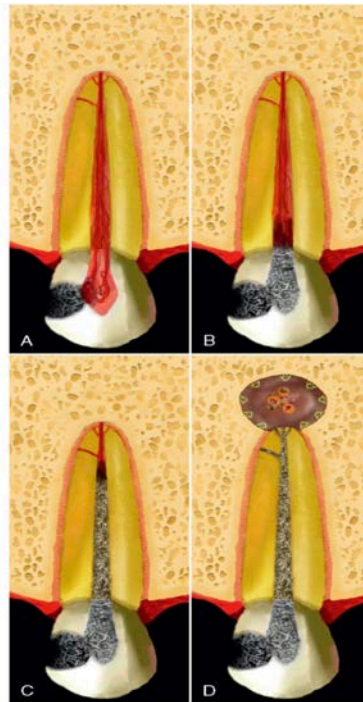


Figura 1: Inflamación, necrosis e infección de la pulpa a partir de la exposición a la caries (A), hasta la formación de una periodontitis apical (D) (Siqueira y Rôças 2011).

Las condiciones ambientales en el conducto radicular necrótico son propicias para el establecimiento de una microbiota dominada por bacterias anaeróbicas. Los perfiles bacterianos de la microbiota endodóntica varía de un individuo a otro (Siqueira 2004). La periodontitis apical tiene una etiología heterogénea, en la que ninguna especie puede considerarse el principal patógeno endodóntico, y las múltiples combinaciones de bacterias pueden jugar un papel muy importante en la causa de la enfermedad (Siqueira 2008).

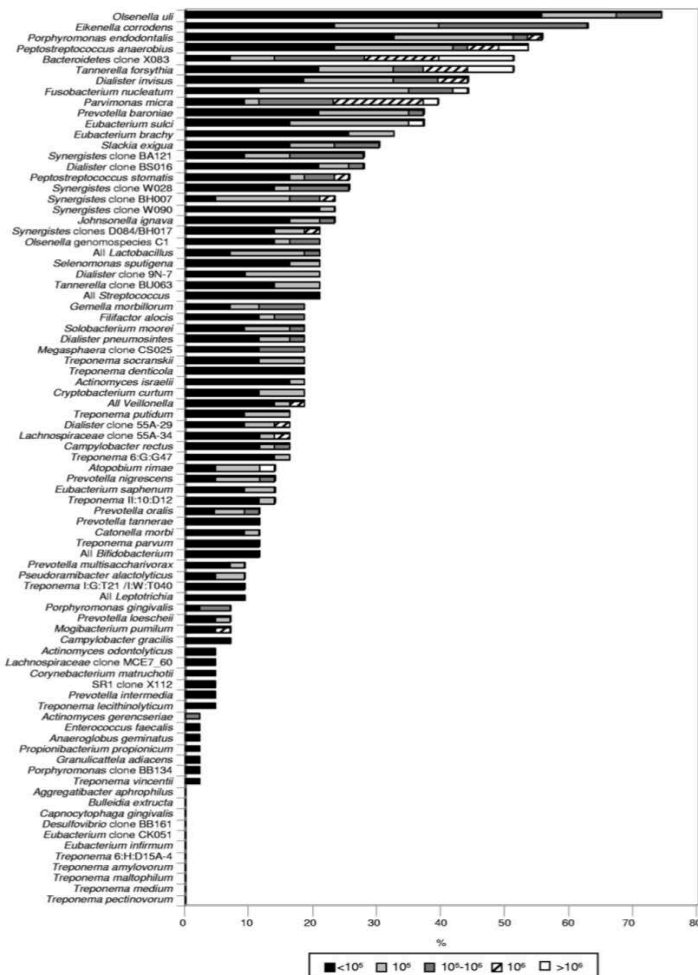


Figura 2: Porcentaje de bacterias aisladas en dientes con periodontitis apical crónica (Siqueira 2008).

Las bacterias se pueden encontrar de manera independiente, es decir, en estado plantónico, o como comunidades organizadas adheridas a superficies, formando biopelículas o biofilms. Estas últimas están compuestas por microorganismos incrustados en una matriz extracelular autoproducida que une las células entre sí (Costerton y cols. 1995, Costerton 1999, Hall-Stoodley y cols. 2004). Tienen una gran relevancia clínica ya que proporcionan a las bacterias entornos protectores contra el estrés, respuestas inmunológicas, agentes antibacterianos y antibióticos (Hall-Stoodley y Stoodley 2009, Hoiby y cols. 2010).

En los sistemas de conductos radiculares las bacterias en forma plantónica no representan las condiciones reales, ya que éstas se organizan formando biopelículas (Nair 1987). Las bacterias que forman una biopelícula suelen tener una mayor resistencia a los agentes antimicrobianos, en algunos casos hasta 1.000 veces mayor que la de los mismos microorganismos que viven en estado plantónico (Gilbert y cols. 1997, Johson y cols. 2002). Parece ser que la resistencia depende de múltiples factores como el sustrato, el microambiente y la edad del biofilm (Stewart 2002, Stewart 2014). Por ello, se han desarrollado estudios evaluando la eficacia de las soluciones irrigadoras contra los biofilms microbianos (Arias-Moliz y cols. 2009, Chávez de Paz y cols. 2010, Eneide y cols. 2019).

Entre el 65-80% de las infecciones en humanos están producidas por biofilms (Costerton 2004). La evidencia creciente indica que la periodontitis apical es también una enfermedad inducida por las biopelículas (Svensater y Bergenholtz 2004, Chávez de Paz 2007, Siqueira y Rôças 2009). La compleja anatomía interna del sistema de conductos radiculares, así como la estructura dentinaria basada en una configuración porosa con túbulos dentinarios que permiten la invasión y adherencia de las bacterias, hace que la desinfección de la dentina sea un proceso muy complejo (Basrani y Malkhassian 2015). De esta forma, los conductos laterales y los istmos que conectan dichos conductos pueden estar obstruidos por células bacterianas organizadas principalmente en biopelículas (Nair y cols. 2005, Ricucci y Siqueira 2008).

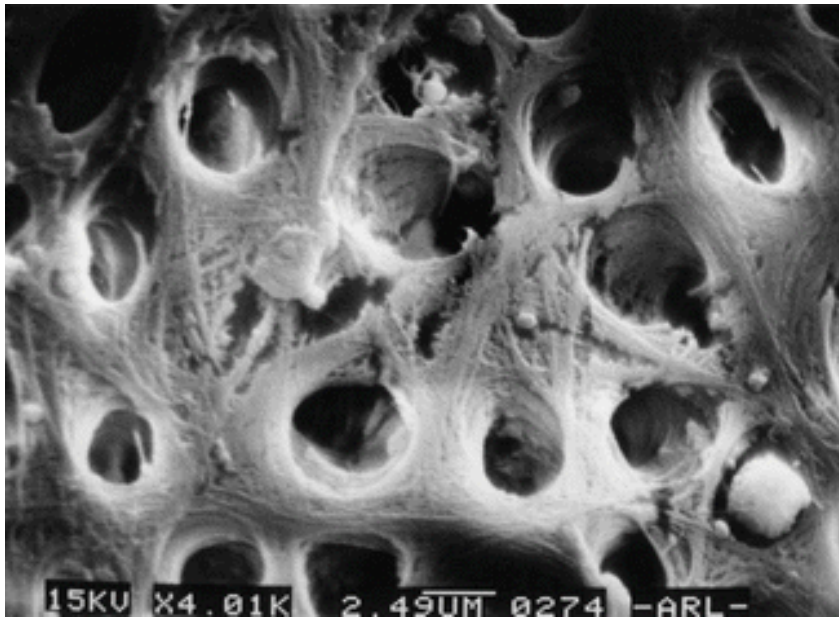


Figura 3: Fotografía con microscopio electrónico de barrido de la dentina mostrando sus irregularidades (Basrani y cols. 2015).

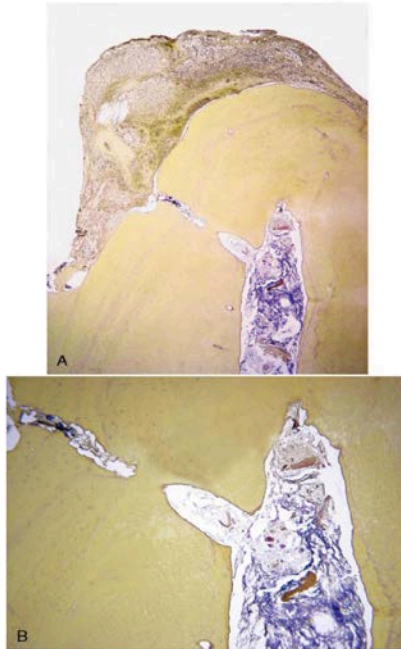


Figura 4: Biopelícula bacteriana en conducto necrótico y ramificación lateral (Ricucci y Siqueira 2008).

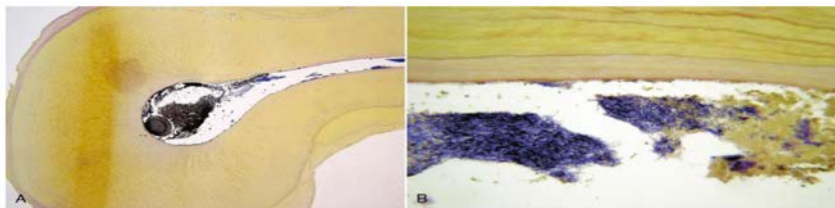


Figura 5: A, Infección bacteriana en conducto principal que se dispersa hacia istmo. B, Istmo obstruido por bacterias (Ricucci y Siqueira 2008).

Las infecciones endodónticas se pueden clasificar según su localización anatómica en intrarradiculares o extrarradiculares. La infección intrarradicular se debe a microorganismos que colonizan el sistema de conductos, y se pueden subdividir en tres categorías: primaria, secundaria y persistente. La infección extrarradicular se caracteriza por la invasión microbiana de los tejidos perirradiculares inflamados y es una secuela de la infección intrarradicular (Munson y cols. 2002, Saito y cols. 2006, Rôças y Siqueira 2008).

La infección intrarradicular primaria es la infección del tejido necrótico de la pulpa (figura 6). Se caracteriza por la presencia de una comunidad variada dominada notoriamente por bacterias anaerobias. El número de bacterias varía entre  $10^3$  y  $10^8$  por conducto radicular (Sundqvist 1976, Vianna y cols. 2006, Sakamoto y cols. 2007, Siqueira y cols. 2007). Los conductos de dientes con tractos sinusales contienen una media de 17 especies (Rôças y Siqueira 2008). El tamaño de la lesión de periodontitis apical es proporcional al número de especies bacterianas y de células que haya en el conducto radicular (Rôças y Siqueira 2008, Siqueira y cols. 2007, Sundqvist 1976).



Figura 6: Periodontitis apical debida a una infección intrarradicular primaria. La pulpa necrótica y el tamaño de la lesión es directamente proporcional a la complejidad de la microbiota implicada.

Las infecciones intrarradiculares secundarias o persistentes se deben a microorganismos que han resistido a los procedimientos antimicrobianos dentro del conducto y que han sobrevivido dentro del sistema de conductos tratado. Los microorganismos implicados son los restos de una infección primaria o secundaria, en este último caso debida a microorganismos que en algún momento entraron en el sistema del conducto radicular como consecuencia de una intervención profesional. Las especies involucradas pueden ser microorganismos orales o no orales, dependiendo del origen de la infección secundaria. Estas infecciones pueden ser responsables del fracaso del tratamiento endodóntico caracterizado por una lesión de periodontitis apical que aparece después del tratamiento (Lin y cols. 1991, Lin y cols. 1992, Pinheiro y cols. 2003, Rôças y cols. 2004).

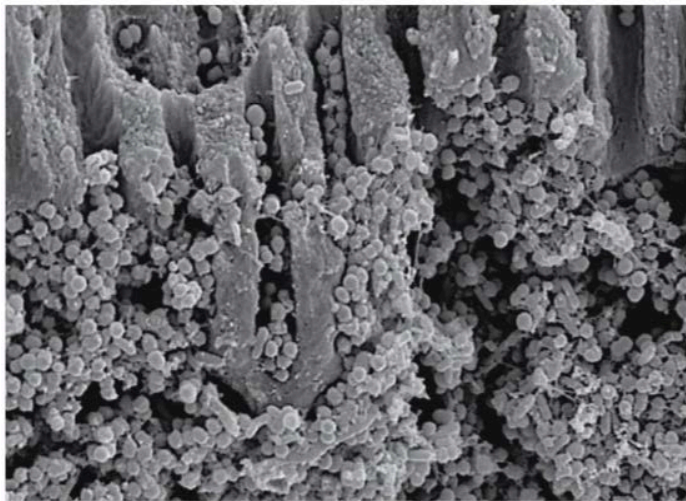


Figura 7: Infección en las paredes de un conducto radicular. Se observan cocos y pequeños bacilos. Los cocos están penetrando en los túbulos dentinarios (Siqueira y cols. 2002).



Las lesiones denominadas periodontitis apical son la respuesta que ofrece nuestro cuerpo a la infección intrarradicular y por lo general constituyen una barrera eficaz frente a la diseminación de la infección hacia el hueso alveolar y otros lugares de nuestro organismo. La forma más frecuente de infección extrarradicular es el absceso apical agudo. Sin embargo, existe otra forma de infección extrarradicular caracterizada por la ausencia de síntomas evidentes. Esta situación implica el establecimiento de los microorganismos en los tejidos perirradiculares, ya sea por adherencia en la superficie apical externa de la raíz en forma de biopelícula (Tronstad y cols. 1990, Nair y cols. 2005) o mediante la formación de colonias cohesivas actinomicóticas dentro del cuerpo de la lesión inflamatoria (Happonen 1986). Estos microorganismos extrarradiculares se consideran una de las etiologías de la persistencia de las lesiones de periodontitis apical a pesar de un tratamiento correcto en el conducto radicular (Siqueira 2003, Tronstad 2003).

Tal y como ha sido descrito por Bence (1980), Weine (1982), Schilder (1983) y otros estudios de literatura contemporánea, los tres principios básicos que determinan el éxito en la endodoncia son: la fase diagnóstica, la fase de preparación y la fase de la obturación del sistema de conductos.

El trabajo de Salehrabi y Rotstein (2004) evaluó los resultados del tratamiento endodóntico inicial realizado en 1.462.936 dientes de 1.126.288 pacientes. El 97% de los dientes se mantuvieron en la cavidad oral 8 años después del tratamiento endodóntico no quirúrgico inicial. El análisis de los dientes extraídos reveló que el 85% no tenía una cobertura coronal completa. Otros muchos estudios describen porcentajes de éxito y fracaso de los tratamientos de conductos (Friedman y cols. 2003, Farzaneh y cols. 2004a, Farzaneh y cols. 2004b, Wang y cols. 2004, Marquis y cols. 2006, De Chevigny y cols. 2008a, De Chevigny y cols. 2008b, Barone y cols. 2010) distinguiendo entre tratamientos iniciales, retratamientos de conductos por vía ortógrada o microcirugía apical. Cuando se revisa el tratamiento endodóntico inicial en general, hay consenso entre la mayoría de los estudios en que la periodontitis apical preoperatoria es, con mucho, el factor más dominante que influye en el pronóstico, pero no existe tal consenso en cuanto al valor pronóstico de otros factores (Friedman 1998). Dado que la periodontitis apical es

causada y sostenida principalmente por la infección del conducto radicular, puede argumentarse que el grado en que se elimina la infección del conducto radicular es, en sí mismo, un factor de pronóstico (Sjögren y cols. 1997).

## 1.2. ANATOMÍA DE LOS SISTEMAS DE CONDUCTOS

El odontólogo y profesor húngaro György Carabelli, de la Universidad de Viena, fue el primer autor en ofrecer una descripción exhaustiva del número y la ubicación de los conductos radiculares en su libro *Anatomía de Mundos* en el año 1842. Desde entonces multitud de autores han investigado sobre la anatomía del sistema de conductos (Mühlreiter 1870, Black 1890, Gysi 1894, Preiswerk 1903, Fisher 1908). En 1914, el anatomista alemán Werner Spalteholz desarrolló un proceso en el que los órganos podían hacerse translúcidos y teñirse usando diferentes colores. El profesor Walter Hess desarrolló su propia técnica y estudió la morfología del conducto radicular de aproximadamente 3.000 dientes (Hess 1917, Hess y Zurcher 1925) basándose en el método de desmineralización. Posteriormente, Okumura en 1927 estudió 1.339 dientes utilizando las técnicas de inyección y diafanización.

En las siguientes décadas, la morfología del sistema de conductos radiculares se describió mediante varios métodos *in vivo* y *ex vivo*, como los modelos de cera tridimensionales (Meyer y Scheele 1955), la radiología convencional (Mueller 1933, Barker y cols. 1969, Pineda y Kuttler 1972, Pécora y cols. 1991), la radiografía digital (Nattres y Martin 1991, Burger y cols. 1999, Schäfer y cols. 2002) la inyección de resina (Barket y cols. 1973, Barker y cols. 1974a, Barker y cols. 1974b), evaluación macroscópica (Green 1955, Green 1973, Baratto-Filho y cols. 2002), corte de dientes en diferentes planos (Green 1958, Weiene y cols. 1969, Mauger y cols. 1998), evaluación microscópica (Green 1956, Burch y Hulen 1972, Kerekes y Tronstad 1977), técnicas de diafanización (Robertson y cols. 1980, Vertucci 1984, Venturi y cols. 2003, Weng y cols. 2009), métodos radiográficos con medios de contraste (Naoum y cols. 2003) y microscopía electrónica de barrido (Gilles y Reader 1990).

Estos métodos fueron de gran ayuda, pero tienen limitaciones inherentes que han sido discutidas repetidamente, alentando la búsqueda de nuevos métodos con mejores posibilidades (Bergmans y cols. 2001).

En 1986, Mayo y cols. introducen las imágenes asistidas por computadora en el campo de la investigación en endodoncia. Algunos años después, se implementó un nuevo método computarizado para la visualización tridimensional del conducto radicular antes y después de la instrumentación (Berutti 1993). Posteriormente, este método informático se mejoró disminuyendo el grosor de la sección transversal de la raíz (Blašković-Šubat y cols. 1995, Lyroudia y cols. 1997).

Estos métodos computarizados permitieron desarrollar modelos tridimensionales de la raíz, así como las mediciones de parámetros como la distancia, el contorno, el diámetro, el perímetro, el área, la superficie y el volumen de los conductos. A pesar de las mejoras logradas con este nuevo enfoque, seguía siendo una técnica destructiva, y se comprobó que el grosor de las secciones y la pérdida de material influían en los resultados obtenidos (Hegedus y cols. 2010).

El descubrimiento de la tomografía computarizada (TC) de rayos X supuso un paso adelante en la medicina de diagnóstico (Hounsfield 1973) ya que tomando un número determinado de cortes, se produce un mapa tridimensional del objeto en concreto. Una década después de la creación del escáner TC, Elliott y Dover desarrollaron el primer dispositivo de tomografía microcomputarizada de rayos X (micro-CT) de alta resolución. En 1990, Tachibana y Matsumoto fueron los primeros autores que sugirieron y evaluaron la viabilidad de la tomografía computarizada en el campo de la endodoncia. Hoy en día, a pesar de la imposibilidad de emplear la micro-CT para la obtención de imágenes humanas in vivo, es considerada la herramienta de investigación más importante y precisa para

el estudio de la anatomía del conducto radicular (Versiani y cols. 2011, Versiani y cols. 2012, Versiani y cols. 2013).

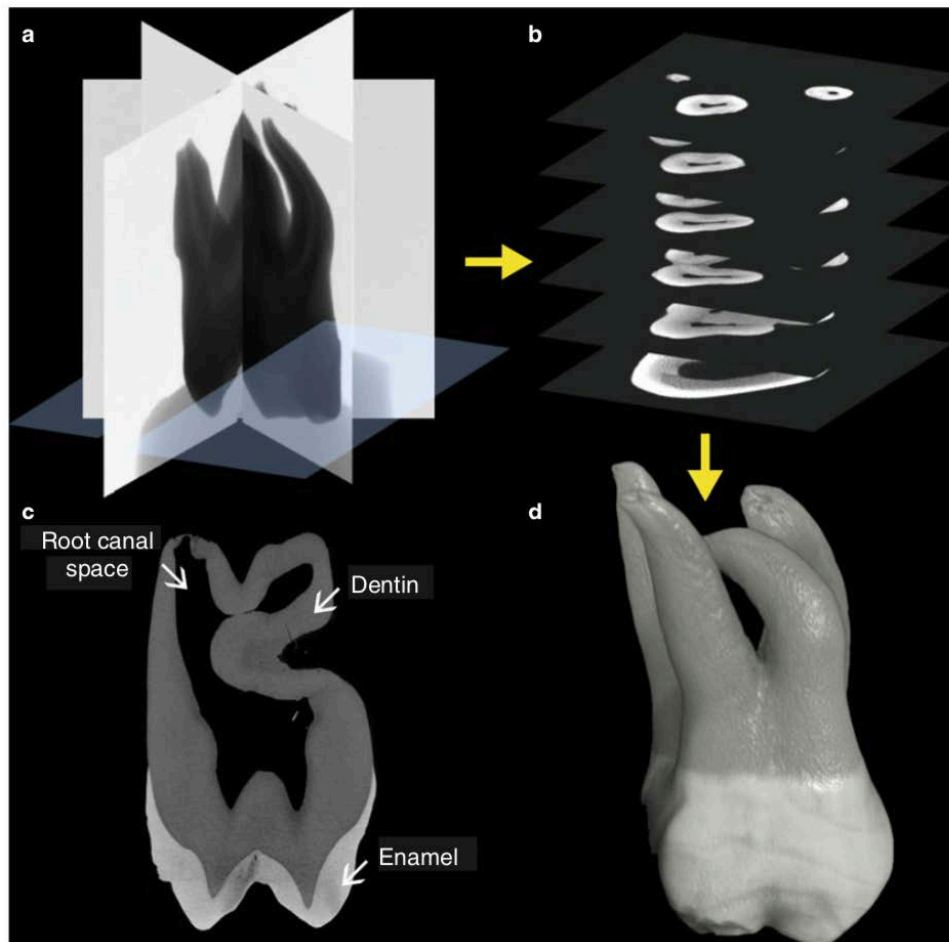


Figura 8: Micro-CT. Las diferentes densidades radiográficas de los tejidos dentales facilitan su segmentación, que puede utilizarse para crear modelos tridimensionales (Versiani y cols. 2015).

La importancia de la anatomía de los diversos sistemas de conductos ha sido enfatizada por estudios en los que se demostró que las variaciones de la geometría del conducto antes de la conformación y limpieza, tenían mayor efecto sobre los cambios ocurridos durante la preparación que las técnicas de instrumentación (Peters y cols. 2000, Peters y cols. 2001, Peters y cols. 2003).

El sistema de conductos radiculares está dividido en dos porciones: la cámara pulpar, localizada en la corona anatómica del diente, y los conductos pulpares o radiculares, localizado en la raíz anatómica. Entre las demás características morfológicas se incluyen: cuernos pulpares; conductos accesorios, laterales y de furcación; orificios de los conductos, deltas y forámenes apicales (Burch y Hulen 1972, Green 1973, Gutiérrez y Aguayo 1995).

Los conductos accesorios son canales muy pequeños que se extienden en dirección horizontal, vertical o lateral, desde la pulpa hasta el periodonto. En el 74% de los casos se encuentran en el tercio apical de la raíz, en el 11% en el tercio medio y en el 15% en el tercio cervical (Vertucci 1984). Las ramificaciones laterales y apicales del conducto radicular principal se forman después de que se desarrolla una fragmentación localizada de la vaina de la raíz epitelial, dejando un pequeño hueco, o cuando persisten los vasos sanguíneos que corren desde el saco dental a través de la papila dental. La dentinogénesis no se produce en esta zona específica, dando lugar a un canal que contiene pequeños vasos sanguíneos y en ocasiones tejido nervioso. Los conductos accesorios contienen tejido conectivo y vasos sanguíneos, pero no suministran suficiente vascularización a la pulpa para formar circulación sanguínea colateral; por consiguiente, contribuyen poco, si es que contribuyen, a la función de la pulpa, excepto posiblemente en el caso de las ramificaciones localizadas en los 1-2 mm apicales del canal (Walton y Vertucci 2009, Tronstad 2009). Estos conductos pueden provocar patología, puesto que proporcionan una vía para el paso de sustancias irritantes, sobre todo desde la pulpa hasta el periodonto (Cutright y Bhaskar 1969). Las ramificaciones pueden observarse en cualquier lugar a lo largo de la longitud de la raíz, pero se producen más comúnmente en la porción apical y en los dientes posteriores (De Deus 1975). En el 73.5% de los casos, las ramificaciones se encuentran en el tercio apical de la raíz, en el 11% en el tercio medio y en el 15% en el tercio coronal (Vertucci 1984).

También se pueden encontrar conductos accesorios en la bifurcación o la trifurcación de dientes con múltiples raíces (Vertucci 1984). El estudio de Vertucci y Williams (1974) los denominó conductos de furcación. Se forman como consecuencia del atrapamiento de vasos periodontales durante la fusión del diafragma, que se convierte en el suelo de la cámara pulpar (Cutright y Bhaskar 1969). En los molares inferiores esos conductos pueden adoptar tres patrones distintos (figura 9).

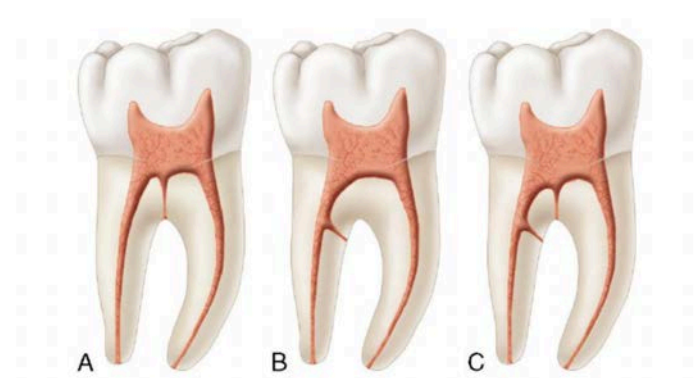


Figura 9: Los conductos accesorios adoptan tres patrones distintos en los primeros molares inferiores. A) 13% conducto de furcación. B) 23% un conducto lateral C) 10% conductos laterales y en zona de furca (Vertucci y Haddix 2011).

Podemos encontrar otras zonas anatómicas de difícil acceso para los irrigantes y los materiales de obturación como son las reabsorciones internas. Se trata de la pérdida de tejidos duros dentales como resultado de actividades clásticas (Bille y cols. 2008). Levin y Trope la describieron en 2002 como una patología intrarradicular o apical teniendo en cuenta su localización. Dada la inaccesibilidad de las lesiones de reabsorción interna de las raíces al desbridamiento quimiomecánico, la activación ultrasónica de los irrigantes debe considerarse un paso esencial en la desinfección del defecto. Sin embargo, incluso con el uso de instrumentos ultrasónicos, las bacterias pueden permanecer en áreas confinadas

(Burleson y cols. 2007). El desbridamiento químico del espacio del conducto radicular no logra que el sistema radicular esté libre de bacterias de manera consistente (Byström y Sundqvist 1981, Byström y Sundqvist 1983, Sjögren y cols. 1997, McGurkin-Smith y cols. 2005, Siqueira y cols. 2007). Por lo tanto, debe utilizarse un medicamento antibacteriano intraconducto para mejorar la desinfección de los defectos de reabsorción inaccesibles (Siqueira y cols. 2002).

Desde los primeros trabajos de Hess y Zurcher (1925) hasta los estudios más recientes (Kartal y Yanikoglu 1992, Caliskan y cols. 1995, Gulabivala y cols. 2001, Sert y Bayirli 2004) que han demostrado las complejidades anatómicas del sistema de conductos radiculares, se sabe desde hace tiempo que la raíz con un conducto cónico y un solo foramen constituye la excepción más que la regla. Los investigadores han encontrado múltiples forámenes, conductos adicionales, deltas, conexiones entre conductos, asas, conductos con forma de C, canales que desembocan en furcaciones y conductos laterales en la mayoría de los dientes (Dankner y cols. 1990, De Moor 2002, Okumura 1926, Pineda y Kuttler 1972, Skidmore y Bjorndal 1971, Vertucci 1984).

El clínico debe estar familiarizado con las distintas vías que pueden seguir los conductos radiculares hasta el ápice. El sistema de conductos es complejo y los canales se pueden ramificar, dividir y volver a juntar. El trabajo de Vertucci de 1984 utiliza dientes diafanizados en los cuales se tiñen los conductos radiculares con hematoxilina identificando ocho configuraciones distintas. Posteriormente, surgieron otras muchas configuraciones de diversos autores (Kartal y Cimilli 1997, Gulabivala y cols. 2001, Sert y cols. 2004, Peiris y cols. 2007, Al - Qudah y Awawdeh 2009) que se recogen en la siguiente figura.

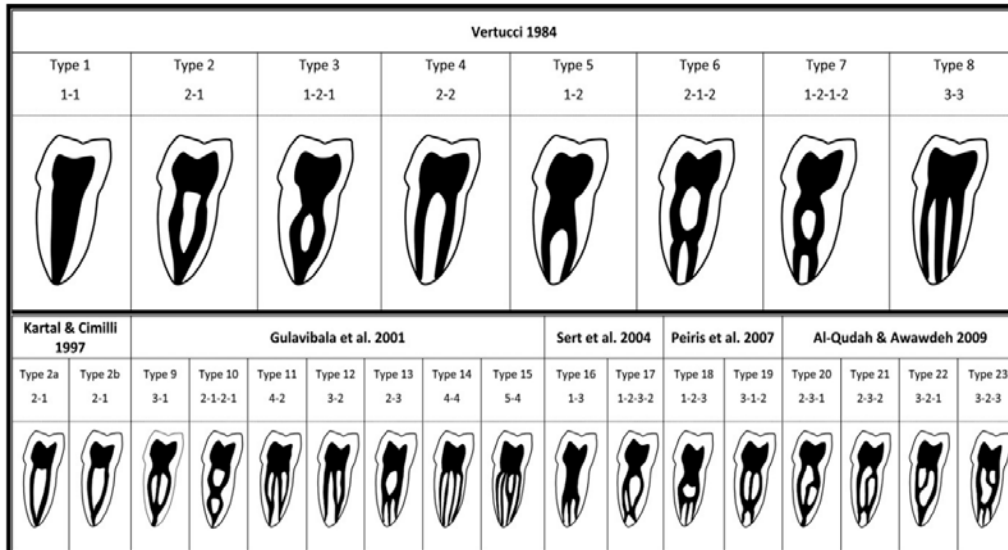


Figura 10: Diferentes configuraciones de sistemas de conductos correspondientes a primeros molares mandibulares (de Pablo y cols. 2010).

En los diferentes grupos raciales aparecen tipos específicos de morfología del sistema de conductos. Por ejemplo, en comparación con los pacientes caucásicos, los de origen africano tienen un mayor número de conductos supernumerarios en el primer premolar inferior (33% frente al 14%) y en el segundo premolar inferior (8% frente al 3%) según el estudio de Trope y cols. de 1986. Además, los pacientes de origen asiático presentan porcentajes de configuraciones del sistema de conductos diferentes a los hallados en los estudios sobre poblaciones caucásicas y africanas (Walker 1987, Walker 1988a, Walker 1988b, Wasti y cols. 2001). Una variante étnica bien conocida es la incidencia más alta de segundos molares inferiores con raíz única y con forma de C en los sujetos asiáticos, comparados con los de otras razas (Manning 1990).



### 1.3. IRRIGACIÓN EN ENDODONCIA Y SOLUCIONES IRRIGANTES

En la desinfección endodóntica hay dos desafíos principales que es importante reconocer: el desafío anatómico y el desafío microbiológico (Kishen 2012). El desafío anatómico puede dividirse en la complejidad del sistema de conductos radiculares, la estructura dentinaria y los componentes de la dentina.

Se sabe que la eficacia de los irrigantes antimicrobianos se comprueba en condiciones in vivo (Shrestha y Kishen 2012). En estudios recientes se ha informado que el polvo dentinario, la albúmina sérica y la matriz de dentina pueden inhibir el efecto antibacteriano de los irrigantes comúnmente utilizados (Haapasalo y cols. 2000, Portenier y cols. 2001, Portenier y cols. 2002). De igual forma, también se ha informado que incluso el efecto antibacteriano de las técnicas avanzadas de desinfección como las nanopartículas de quitosano y la desinfección por fotoactivación también puede ser neutralizado por los componentes de la dentina (Shrestha y Kishen 2012).

Los irrigantes endodónticos tienen tres objetivos principales: químicos, biológicos y mecánicos. Los objetivos mecánicos incluyen la liberación de los desechos y la lubricación del conducto; los objetivos químicos incluyen el ablandamiento y disolución de los tejidos orgánicos e inorgánicos, la prevención de la formación de una capa de barrillo dentinario durante la instrumentación y la disolución de éste una vez que se ha formado; y los objetivos biológicos están relacionados con sus efectos antisépticos y no tóxicos, como la eficacia contra los microorganismos facultativos anaerobios (planctónicos y biopelículas), la capacidad de inactivar las endotoxinas, no tóxica y no cáustica, y el escaso potencial de causar reacciones anafilácticas.

La solución de irrigación ideal para desinfectar el sistema de conductos radiculares debe ser un agente bactericida biocompatible, disolvente de tejidos, lubricante y ser capaz de eliminar el barrillo dentinario, con un efecto sostenido en el tiempo pero sin afectar las propiedades físicas de la dentina.

<b>1. Efectivo germicida y fungicida.</b>
<b>2. No irritar tejidos periapicales.</b>
<b>3. Estable en solución.</b>
<b>4. Prolongado y sostenido en el tiempo efecto antimicrobiano .</b>
<b>5. Activo en presencia de sangre, suero y derivados proteínicos de los tejidos.</b>
<b>6. Eliminar el barrillo dentinario.</b>
<b>7. Baja tensión superficial.</b>
<b>8. Desinfectar la dentina y los túbulos dentinarios.</b>
<b>9. No interferir en la reparación de los tejidos periapicales.</b>
<b>10. No teñir la estructura dental.</b>
<b>11. Inactivación en un medio de cultivo.</b>
<b>12. No ser antigénica, tóxica ni cancerígeno.</b>
<b>13. No tener efectos adversos sobre propiedades físicas de la dentina.</b>
<b>14. No efecto adverso sobre capacidad de sellado de los materiales obturación.</b>
<b>15. Fácil de usar y aplicar.</b>
<b>16. No tener un alto coste económico.</b>

Tabla 1: Características de la solución irrigante ideal (Basrani y Haapasalo 2012).

Las soluciones de irrigación en endodoncia pueden clasificarse como soluciones antimicrobianas, soluciones quelantes (fuertes o débiles), combinaciones (soluciones antibacterianas y quelantes combinadas) y soluciones con detergente. En cuanto a los efectos antimicrobianos lo tendrán las siguiente soluciones: antisépticas, antibióticos tópicos, soluciones bacteriostáticas y soluciones bactericidas.

### 1.3.1. Hipoclorito de Sodio

El hipoclorito de sodio es un compuesto químico con la fórmula NaOCl que se utiliza frecuentemente como desinfectante o agente blanqueador. Es el medicamento de elección durante los tratamientos de conductos debido a su eficacia contra los organismos patógenos y la digestión de la pulpa.

Fabricado por primera vez en 1789 en Javel, Francia, dando lugar a un líquido conocido como “Agua de Javel” el cuál era una solución débil de NaOCl. Este proceso no fue muy eficiente y se buscaron métodos de producción alternativos como el de la extracción de la lima clorada con carbonato sódico (Basrani y Haapasalo 2012). La solución de hipoclorito sódico al 0.5% amortiguada con bicarbonato sódico a pH 9 fue descrita por Dakin en 1915 y utilizada para la limpieza de heridas de combate durante la Primera Guerra Mundial. En el mundo de la endodoncia fue introducida por Walker en 1936. En 1941 Grossman y Meinan evaluaron varias sustancias irrigadoras utilizadas durante la conformación de conductos comprobando que la solución de hipoclorito sódico entre 4 y 6% (soda doblemente clorada) fue el disolvente más eficaz del tejido pulpar. Marshall y cols. (1960) reportaron que los antisépticos acuosos mostraban una mejor penetración en los túbulos dentinarios que las sustancias no acuosas, aumentando la permeabilidad dentinaria la solución de hipoclorito de sodio al 5%.

El hipoclorito sódico es recomendado como principal irrigante por su capacidad antimicrobiana, para prevenir la formación de barrillo dentinario y disolver su parte orgánica, así como la disolución de tejido orgánico remanente (Zehnder 2006). Sin embargo, también ha demostrado tener efectos citotóxicos sobre tejidos vitales, produciendo severas inflamaciones al salir al periápice. Estos efectos son directamente proporcionales a la concentración de la solución irrigante. El hipoclorito sódico tiene unas propiedades proteolíticas altamente efectivas, pero es muy citotóxico por lo que se recomienda su uso de forma juiciosa y con gran precaución para evitar que alcance los tejidos periapicales (Pashley y cols. 1985). En la tabla 3 se resumen las características del NaOCl. En cuanto a su mecanismo de acción, Pécora y cols. (1999) informaron de que el hipoclorito sódico exhibe un equilibrio químico dinámico como demuestra la siguiente reacción:



Figura 11: Mecanismo de acción del hipoclorito sódico (Pécora y cols. 1999).

El análisis de esta ecuación permite comprender mejor las acciones del hipoclorito de sodio. Para ello hay que comprender que el hidróxido de sodio (NaOH) es un potente solvente orgánico y de grasas; mientras que el ácido hipocloroso (HOCl) es un potente agente antimicrobiano debido a la liberación de cloro naciente.

En los siguientes esquemas se muestran las reacciones que ocurren entre el hipoclorito sódico y el tejido orgánico (Barbin 1999, Santos 1999, Spanó y cols. 2001):

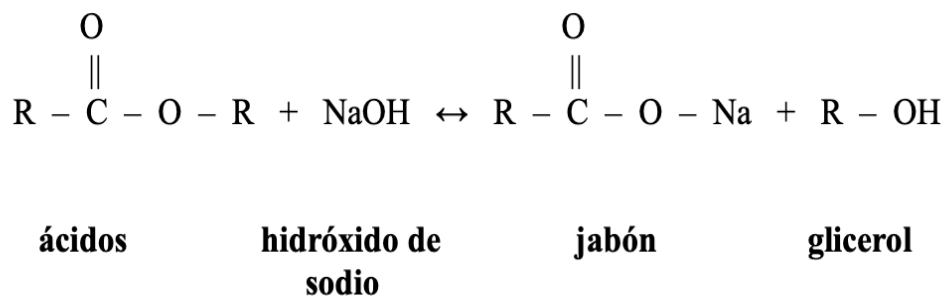


Figura 12: Reacción de Saponificación.

El hidróxido sódico actúa como un disolvente orgánico y graso, degradando los ácidos grasos, transformándolos en sales de ácidos grasos (jabón) y glicerol, que reduce la tensión superficial de la solución remanente.



Figura 13: Reacción de Neutralización.

También neutraliza los aminoácidos formando agua y sal (reacción de neutralización). Con la salida de los iones hidroxilo (OH<sup>-</sup>) se produce una reducción del pH.

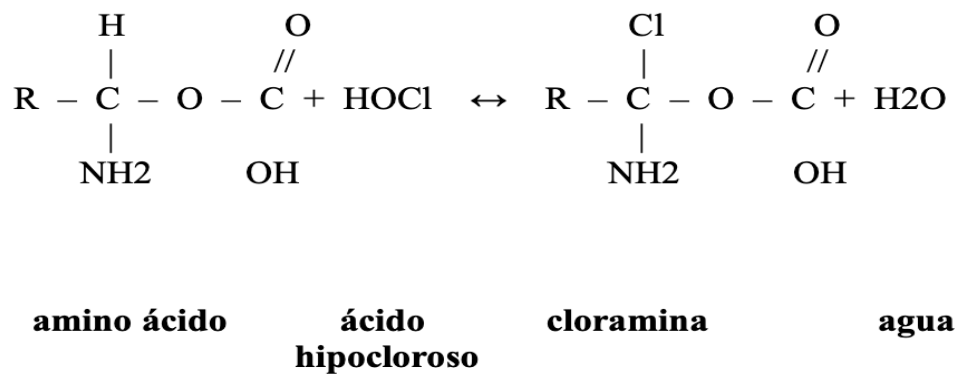


Figura 14: Reacción de Cloraminación.

El ácido hipocloroso (HOCl) es una sustancia presente en la solución de hipoclorito de sodio, cuando esta sustancia entra en contacto con tejido orgánico actúa como un disolvente, liberando cloro que combinado con el grupo amina de las proteínas forma cloraminas (reacción de cloraminación). El ácido hipocloroso y los iones hipoclorito (OCl<sup>-</sup>) conducen a la degradación de aminoácidos y la hidrólisis.

La reacción de cloraminación entre la clorina y el grupo amino (NH<sub>2</sub>) da lugar a las cloraminas que interfieren en el metabolismo celular. La clorina (oxidante fuerte) presenta acción antimicrobiana inhibiendo las enzimas bacterianas lo que conduce a una oxidación irreversible de grupos SH (grupo sulfhidrilo) de las enzimas bacterianas esenciales. Provocando alteraciones

biosintéticas en el metabolismo celular y la formación de cloraminas que interfieren en dicho metabolismo. Presenta una acción oxidativa que inactiva irreversiblemente las enzimas bacterianas y provoca la degradación de los lípidos y ácidos grasos; así como la destrucción de los fosfolípidos (Estrela y cols. 2002).

El NaOCl es una base fuerte ( $\text{pH} > 11$ ) y su efectividad antimicrobiana está basada en este alto pH (acción del ión hidroxilo), similar al mecanismo de acción del hidróxido de calcio. El alto pH del hipoclorito sódico interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática dando lugar a una inhibición irreversible enzimática, alteraciones biosintéticas en el metabolismo celular y degradación de los fosfolípidos basada en la peroxidación lipídica (Estrela y cols. 2002).

Como irrigante endodóntico es usado en concentraciones entre el 0.5% (Dakin 1915) y 6%. Ha habido controversia sobre el uso de diferentes concentraciones durante el tratamiento de conductos. Sabemos que el NaOCl en altas concentraciones tiene una mayor capacidad de disolución tisular (Hand y cols. 1978) y además es más efectivo contra *Enterococcus Faecalis* y *Candida Albicans* (Waltino y cols. 1999, Gomes y cols. 2001, Radcliffe y cols. 2004). Otros autores (Retamozo y cols. 2010), concluyeron que se necesitan altas concentraciones y largos tiempos de exposición para poder eliminar el *E. Faecalis* de la dentina infectada. Pero hay que tener en cuenta que a mayor concentración, mayor potencial tóxico; por lo cual Spanberg y cols. (1973) recomendaron diluir la concentración de hipoclorito sódico del 5.25% al 0.5%. Por otra parte, se ha demostrado que tanto concentraciones bajas como altas son efectivas en la reducción bacteriana intraconducto (Cvek y cols. 1976, Bystrom y Sundqvist 1981). De tal forma, en caso de emplear bajas concentraciones; se recomienda que sea utilizado en grandes volúmenes con un constante y frecuente intercambio de la solución irrigante (Siqueira y cols. 2000).

<b>1. Irrigante de elección.</b>
<b>2. Efectivo agente antimicrobiano.</b>
<b>3. Excelente disolvente de tejido orgánico.</b>
<b>4. Lubricante.</b>
<b>5. Efectivo con bastante rapidez.</b>
<b>6. Tóxico.</b>
<b>7. No tiene sustentividad.</b>
<b>8. Corrosivo, olor desagradable.</b>
<b>9. Remueve sólo la parte orgánica del barrillo dentinario.</b>

Tabla 2: Características del NaOCl (Basrani y Haapasalo 2012).



Algunos artículos reportan que el hipoclorito sódico mata a los microorganismos diana en apenas segundos; sin embargo, otros estudios han publicado periodos de tiempo considerablemente más largos para extinguir a algunas de las mismas especies bacterianas. La presencia de factores de tamponamiento como la dentina y algunos componentes de esta, pueden dar lugar a marcados retrasos a la hora de eliminar bacterias como el *E. Faecalis* (Haapasalo y cols. 2010). Cuando estos factores se eliminan se ha demostrado que el hipoclorito sódico puede matar a los microorganismos diana rápidamente incluso a muy bajas concentraciones (Vianna y cols. 2004, Portenier y cols. 2005).

Al disminuir el pH de la solución de hipoclorito sódico (fabricada a pH 12) el poder antimicrobiano de la misma aumenta (Christensen y cols. 2008). Baker en 1959 ya indicó que las propiedades de desinfección del hipoclorito sódico decrecen con la subida del pH; paralelamente a la concentración de ácido hipocloroso disociado (Baker 1958, Bloomfield 1979). El estudio de Christensen y cols. de 2008. reporta que la bajada del pH aumenta la capacidad bactericida pero, por otra parte, disminuye su capacidad de disolver tejido orgánico.

A mayor temperatura de la solución de NaOCl menos tiempo se necesita para matar a los microorganismos (Cunningham y Joseph 1980). En el estudio de Sirtes y cols. del año 2005, se demostró que aumentar la temperatura del hipoclorito sódico afecta a su estabilidad, mejora la capacidad de disolver tejido pulpar necrótico humano y la eficacia antimicrobiana contra el *E. Faecalis*. En dicho estudio se observó una disolución 100 veces mayor para una solución, a la misma concentración, a 45°C respecto a utilizarla a 20°C.

Una característica negativa del hipoclorito sódico como irrigante de conductos es su elevada tensión superficial; ya que una de las propiedades que se le exigen al irrigante ideal es tener una baja tensión superficial (Basrani y Haapasalo 2012) que le permita penetrar en el interior de los conductos con facilidad (Salzgeber y Brilliant 1977) y alcanzar áreas no instrumentadas como pueden ser deltas apicales, reabsorciones o conductos laterales. Actualmente es posible disminuir la tensión superficial del hipoclorito sódico agregando un surfactante que mejore la capacidad de penetración de la solución (Giardino y cols. 2006, Lui y cols. 2007).



Figura 15: Sistema modular para el seguro y eficiente llenado de las jeringas de irrigación (Coltene Whaledent, Altstätten, Suiza).

Al manipular el hipoclorito de sodio debemos tener en cuenta los siguientes puntos (Clarkson y Moule 1998, Basrani y Haapasalo 2012):

- La estabilidad de las soluciones de NaOCl se reduce por un pH más bajo, la presencia de iones metálicos, la exposición a la luz, los contenedores abiertos y las temperaturas más altas.
- Para garantizar una buena conservación, todas las soluciones deben almacenarse en recipientes herméticos a la luz (vidrio opaco o polietileno), en un lugar fresco.
- Si se diluyen, deben diluirse lo antes posible después de su compra, porque las soluciones diluidas se deterioran menos rápidamente que las soluciones concentradas.
- Las soluciones de lejía doméstica producidas y almacenadas de esta manera se deteriorarán más rápidamente que las de Milton porque no tienen la sal añadida, que proporciona estabilidad.
- Si se utiliza lejía sin diluir, la botella debe estar siempre bien cerrada y la lejía debe desecharse antes de la fecha de caducidad. Del mismo modo, en el caso de la solución de Milton, siempre que el envase y la tapa estén intactos, el producto debe ser efectivo hasta la fecha de caducidad.
- La apertura frecuente de un contenedor o el hecho de no cerrarlo de forma segura tendría un efecto similar al de dejar un contenedor abierto, por lo que la vida útil se reduciría de forma similar.
- No deben utilizarse nunca recipientes metálicos para el hipoclorito de sodio, ya que el NaOCl reaccionará con el metal de los recipientes.

### 1.3.2. Clorhexidina

La clorhexidina (CHX) fue desarrollada hace más de 50 años en las Industrias Químicas Imperiales de Inglaterra, y fue comercializado por primera vez en el Reino Unido en 1953 como una crema antiséptica (Fardal y Turnbull 1986). Desde 1957 se ha utilizado para fines de desinfección general y también para el tratamiento de infecciones de la piel, ojos y garganta tanto en humanos como en animales (Löe 1973, Fardal y Turnbull 1956).

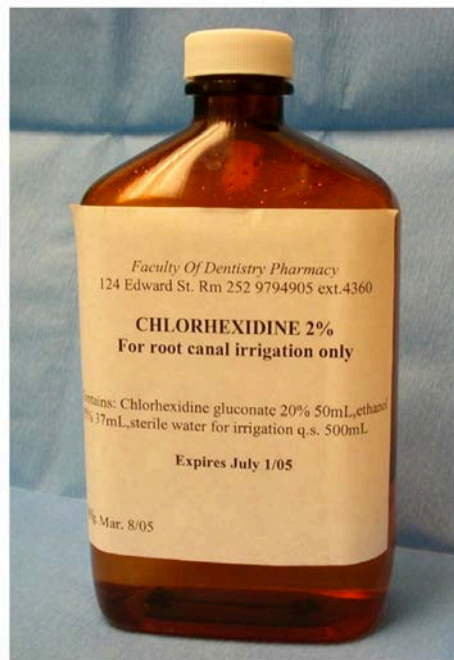


Figura 16: CHX debe ser guardada en un contenedor oscuro para preservar su actividad (Basrani y Haapasalo 2012).

CHX es un agente antimicrobiano de amplio espectro, activo contra bacterias gram-positivas, gram-negativas y levaduras (Denton 1991). Debido a su naturaleza catiónica, CHX es capaz de unirse electrostáticamente a las superficies cargadas negativamente de las bacterias (Davies 1973), dañando las capas externas de la pared celular y haciéndola permeable (Hugo y Longworth 1964, Hugo y Longworth 1966, Hennessey 1973).

Dependiendo de su concentración, CHX puede tener tanto efectos bacteriostáticos como bactericidas. En alta concentración es bacteriostática, causando que las sustancias de bajo peso molecular, es decir, el potasio y el fósforo, se filtren sin que la célula sufra un daño irreversible. También puede afectar al metabolismo bacteriano dando lugar a la inhibición de la producción de ácido en algunas bacterias (Basrani y Lemonie 2005).

Debido a la naturaleza catiónica de su molécula, CHX puede ser absorbida por sustratos aniónicos como la mucosa oral (Winrow 1973, Magnusson y Heyden 1973). También puede ser adsorbida por la hidroxiapatita y los dientes. Los estudios han demostrado que la absorción de CHX en los dientes también es reversible. Esta reacción reversible de captación y liberación de CHX conduce a una actividad antimicrobiana sustantiva y se denomina "sustantividad" (Khademi y cols. 2008). Este efecto depende de la concentración de CHX, de tal forma que a bajas concentraciones de 0.005-0.01% una monocapa estable de CHX se adsorbe y se forma en la superficie del diente; lo que podría cambiar las propiedades físicas y químicas de la superficie y podría prevenir o reducir la colonización bacteriana. En concentraciones más altas (> 0.02%), se forma una multicapa de CHX en la superficie, proporcionando un depósito de clorhexidina, y esta multicapa puede liberar rápidamente el exceso de CHX en el medio ambiente a medida que disminuye la concentración de CHX en el entorno (Emilson y cols. 1973).

En el campo de la medicina, la clorhexidina se utiliza normalmente en concentraciones entre el 0.12% y el 2%. Según Løe y Schiott (1970), a estas concentraciones la CHX tiene un bajo nivel de toxicidad tisular, tanto a nivel local como sistémico (Asboe-Jorgensen y cols. 1974).

En el ámbito de la endodoncia, CHX se ha estudiado como irrigante y como medicamento intraconducto, tanto in vivo (Barbosa y cols. 1997, Lindskog y cols. 1998, Manzur y cols. 2007, Paquette y cols. 2007) como in vitro (Siqueira y cols. 1997, Basrani y cols. 2002, Basrani y cols. 2003, Basrani y cols. 2004). In vitro, la CHX tiene al menos una eficacia antimicrobiana tan buena o incluso mejor que la del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (Lima y cols. 2001). En particular, CHX al 2% fue muy eficaz en la eliminación de una biopelícula de *E. faecalis* (Lindskog y cols. 1998). En los conductos radiculares infectados fue capaz de reducir el número de bacterias tan eficazmente como el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  cuando se aplica durante 1 semana (Kuruvilla y Kamath 1998). A diferencia del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , la CHX tiene una importante actividad antimicrobiana. De tal forma que si la clorhexidina se aplica sobre la dentina intrarradicular tiene el potencial de impedir la colonización bacteriana de las paredes del conducto radicular durante periodos prolongados (Jeansonne y White 1994, Komorowski y cols. 2000).

### 1.3.3. Ácido etilendiaminotetraacético

La utilización de agentes descalcificantes es necesaria en la terapia endodóntica. Los debris se definen como restos de dentina o tejido pulpar vital o necrótico residual adherido a la pared del conducto radicular. La Asociación Americana de Endodoncia definió en 2003 la capa de barrillo dentinario (en inglés smear layer) como una película superficial de desechos retenidos en la dentina u otras caras superficiales después de la instrumentación con instrumentos rotatorios o limas endodónticas; consiste en partículas de dentina, restos de tejido pulpar vital o necrótico, componentes bacterianos e irrigantes retenidos (Basrani y Malkhassian 2015).

El ácido etilendiaminotetraacético, ampliamente abreviado como EDTA, es un ácido aminopolicarboxílico y un sólido incoloro soluble en agua. El EDTA se sugiere a menudo como irrigante porque puede quelar y eliminar la porción mineralizada de la capa de frotis. Su prominencia como agente quelante surge de

su capacidad para secuestrar iones metálicos di- y tricatiónicos como el  $\text{Ca}^{2+}$  y el  $\text{Fe}^{3+}$ . Después de ser unidos por el EDTA, los iones metálicos permanecen en la solución, pero exhiben una reactividad disminuida (Basrani y Haapasalo 2012).

El compuesto fue descrito por primera vez en 1935 por Ferdinand Munz, quien lo preparó a partir de la etilendiamina y el ácido cloroacético. Los agentes quelantes fueron introducidos en la endodoncia como ayuda para la preparación de conductos radiculares estrechos y calcificados en 1957 por Nygaard-Østby (Hülsmann y cols. 2003). En la exposición directa durante un tiempo prolongado, el EDTA extrae las proteínas de la superficie bacteriana combinándolas con iones metálicos de la membrana celular, lo que puede conducir eventualmente a la muerte bacteriana. Los quelantes como el EDTA forman un complejo estable con el calcio. Cuando todos los iones disponibles se han unido, se forma un equilibrio y no se produce ninguna otra disolución; por lo tanto, el EDTA es autolimitante (Hülsmann y cols. 2003).

El EDTA por sí solo no puede eliminar el barrillo dentinario de forma eficaz; hay que añadir un componente proteolítico, como el NaOCl, para eliminar los componentes orgánicos de esta capa. Para la preparación del conducto radicular, el EDTA tiene un valor limitado por sí solo como fluido de irrigación (Goldman y cols. 1976). Se dispone de productos comerciales con esas combinaciones. Por ejemplo, EndoDilator N-0® (Union Broach, York, PA) es una combinación de EDTA y un compuesto de amonio cuaternario. Esta solución irrigadora tiene un ligero efecto detergente además del efecto quelante. Otras soluciones de irrigación combinadas estudiadas son MTAD® (Dentsply, Tulsa Dental, Tulsa, OK), QMiX® y SmearClear® (SybronEndo). SmearClear®, que está disponible comercialmente, es una solución clara, inodora y soluble que contiene agua, 17% de sales de EDTA, un surfactante catiónico (cetrimida) y surfactantes aniónicos (Basrani y Haapasalo 2012).

El EDTA se utiliza normalmente en una concentración del 17% y puede eliminar la capa de barrillo cuando está en contacto directo con la pared del conducto radicular durante menos de 1 min. Aunque el ácido cítrico parece ser

ligeramente más potente que el EDTA en cuanto a su concentración, ambos agentes muestran una gran eficacia en la eliminación de la capa de frotis. Además de su capacidad de limpieza, los quelantes pueden desprender biopelículas adheridas a las paredes del conducto radicular (Gulabivala y cols. 2005).

El efecto de los quelantes en la negociación de conductos estrechos, tortuosos y calcificados para establecer la permeabilidad depende tanto del ancho del canal como de la cantidad de sustancia activa disponible, ya que el proceso de desmineralización continúa hasta que todos los quelantes han formado complejos con el calcio (Hülsmann y cols. 2003, Zehnder y cols. 2005). La secuencia en que la dentina de la pared del conducto radicular está expuesta al NaOCl y al EDTA tiene un impacto en el nivel de erosión de la dentina en la pared principal del conducto radicular (Basrani y Haapasalo 2012). En el estudio reportado por Qian y cols. (2011) no se detectó erosión cuando se utilizaron agentes desmineralizadores como un lavado final después del NaOCl. Sin embargo, la erosión de la dentina peritubular e intertubular se detectó cuando se utilizó primero el EDTA y luego el NaOCl al 5.25%.

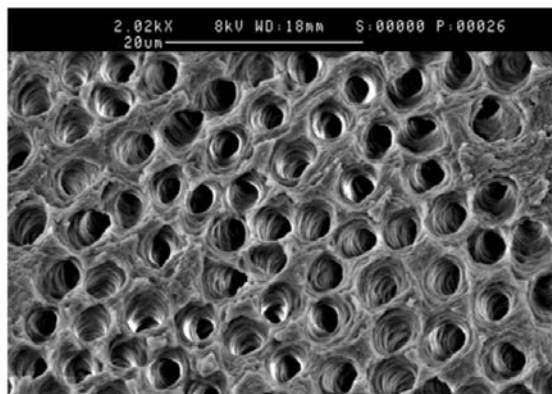


Figura 17: Erosión de la superficie de la pared del conducto radicular después de utilizar EDTA seguido de NaOCl.



#### 1.3.4. Ácido etidrónico

El ácido etidrónico, etidronato o HEBP (1-hidroxietilideno-1,1-bisfosfonato) es un quelante que puede utilizarse en combinación con el hipoclorito de sodio sin que se vean afectadas sus propiedades proteolíticas o antimicrobianas (Zehnder 2006). Se sugirió como sustituto de los quelantes tradicionales debido a los menores efectos observados en la estructura de la dentina (Tartari y cols. 2013).

Sin embargo, en contraste con el EDTA, el HEBP es un agente descalcificador débil y por lo tanto no puede ser usado como un mero lavado final. Por lo tanto, se recomienda que la HEBP se mezcle con el NaOCl para ser usado como una solución irrigadora más completa. Esta combinación es ventajosa porque la solución mantiene el equilibrio entre el hipoclorito de sodio y el ácido hipocloroso hacia el NaOCl, que tiene una mejor capacidad de disolución de los tejidos que el ácido hipocloroso (Christensen y cols. 2008) y también es menos citotóxico (Aubut y cols. 2010). A su vez reduce la acumulación de restos de dentina en el conducto radicular durante la instrumentación rotatoria (Paqué y cols. 2012).

Un estudio reciente ha demostrado que la capacidad de disolución tisular del NaOCl no disminuye cuando se mezcla con HEBPT, también conocido como 1-hidroxietilideno-1, 1-bisfosfonato (HEBP) o etidronato (Tartari y cols. 2015). Además, esta combinación evita la formación de barrillo dentinario durante la instrumentación del conducto radicular rotatorio en una medida similar a la del uso convencional de NaOCl durante la instrumentación seguida de EDTA (Lottanti y cols. 2009). En consecuencia, la solución de NaOCl/HEBP podría utilizarse como un único irrigante durante y después de la instrumentación, sustituyendo el enjuague final por un agente quelante (Arias-Moliz y cols. 2014).

### 1.3.5. Keratobacter®

Es una solución irrigante elaborada como acondicionador de conductos. Su fórmula está basada en ácido glicólico, otro de los alfa-hidroxiácidos a los que pertenecen los ácidos cítrico, málico, láctico o tartárico, de uso habitual en cosmética, pero inédito en odontología. Los alfa-hidroxiácidos poseen dos particularidades añadidas sobre el EDTA: son quelatolíticos y en combinación con el NaOCl lo vuelven inestable, liberando cloro activo, cloraminas y oxígeno nascente. Es una solución que aglutina las propiedades de detergente, humectante, espumante, emulgente, solubilizante y lubricante. Por otra parte, es un potente antimicrobiano debido a su asociación sinérgica con dos antisépticos como el fenoxietanol y el cloruro de benzalconio.

En cuanto a su viscosidad, es preferible la formulación en fase semigel para mantener los residuos en suspensión, evitando que se adhieran a las paredes de los conductos radiculares; favoreciendo de este modo que tanto los restos de tejido pulpar como el barrillo dentinario flote, reduciendo la probabilidad de un bloqueo del conducto radicular. En este producto se utilizan polímeros hidrosolubles, PVP K-90, fáciles de arrastrar con el NaOCl, que además poseen efectos lubricantes.

Aunque los conceptos de irrigante y acondicionador de conductos se utilicen indistintamente, el profesor Cabanes Vila los ha separado según sus particularidades y repercusiones clínicas. Un irrigante es un sistema homogéneo, en fase líquida, que generalmente suele utilizarse como agente químico único durante toda la preparación biomecánica. Sin embargo, un acondicionador de conductos es un sistema variable, a veces homogéneo en forma de solución o emulsión, y otras veces heterogéneo en forma de solución; y que requiere obligatoriamente la participación de un irrigante de conductos. Como ejemplos tenemos RC-Prep® (Premier), BioPure MTAD® (Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN), Tetraclean® (Orna Laboratori Framaceutici, Mugió, Italia), SmearClear® (SybronEndo, Orange, CA) y Keratobacter® (KP®) (St Joseph DID, Valencia, España).

El protocolo clínico clásico para la utilización del Keratobacter® como acondicionador de conductos es el siguiente:

1. Depositar unas gotas de KP® en la cámara pulpar (especialmente en conductos atrésicos por calcificación).
2. Irrigar con NaOCl 5% para inactivar KP®.
3. Determinar longitud de trabajo e irrigar hasta 3 mm del ápice anatómico.
4. Alternar NaOCl 5% y KP® utilizando grandes cantidades de hipoclorito sódico (entre 1-2 mL por conducto y lima) y sólo unas gotas de Keratobacter®.
5. Finalizada la instrumentación irrigar una última vez con KP® seguido de la cantidad necesaria de NaOCl para que el líquido aspirado salga sin burbujas.
6. Irrigar con etanol de 96° para deshidratar y eliminar el NaOCl cristalizado.

#### 1.4. INTERACCIONES ENTRE SOLUCIONES IRRIGANTES

##### 1.4.1. NaOCl - CHX

La combinación de NaOCl y CHX produce un cambio de color y un precipitado, esta reacción depende de la concentración de NaOCl. Cuanto mayor sea la concentración de NaOCl, mayor será el precipitado si lo estamos mezclando con CHX al 2%. Además, se ha planteado la preocupación de que el cambio de color pueda tener alguna relevancia clínica causando la mancha del diente. También el precipitado resultante podría interferir con el sellado de la obturación del conducto radicular. Basrani y cols. en el año 2007 evaluaron la naturaleza química de este precipitado e informaron de la formación de 4-cloroanilina (PCA). Además, un estudio reciente (Kolosowski y cols. 2008) utilizando el análisis TOF-SIMS mostró la penetración de PCA dentro de los túbulos dentinarios. Se ha demostrado que la PCA es tóxica en los humanos con una exposición de corta duración, lo que da lugar a la cianosis, que es una manifestación de la formación de metahemoglobina. La interacción debe ser evitada usando EDTA u otros irrigantes después del NaOCl y antes del CHX o alternativamente, los conductos pueden ser secados usando puntos de papel antes del enjuague final (Zehnder 2005).

#### 1.4.2. NaOCl – EDTA

Grawher y cols. (2003) estudiaron las interacciones entre el EDTA y el NaOCl. Concluyeron que el EDTA mantenía su capacidad quelante cuando se mezclaba con el NaOCl, pero el EDTA hacía que el NaOCl perdiera su capacidad de disolver tejidos, sin que prácticamente se detectara cloro libre en las combinaciones. Clínicamente, esto sugiere que el EDTA y el NaOCl deben usarse por separado. En un régimen de irrigación alternado, tienen que administrarse cantidades copiosas de NaOCl para lavar los restos del EDTA. En la endodoncia moderna, el EDTA se usa una vez que la limpieza y conformación se han completado durante aproximadamente 1 minuto. Puede ser activado por ultrasonido para una mejor penetración en los túbulos dentinarios, pero hay que tener en cuenta que no es deseable un aumento de la temperatura del EDTA. Los quelantes tienen un rango de temperatura en el que pueden trabajar al máximo de sus capacidades, de tal forma que cuando el EDTA se calienta de 20 a 90°, la capacidad de fijación del calcio disminuye (Zehnder y Paqué 2008).

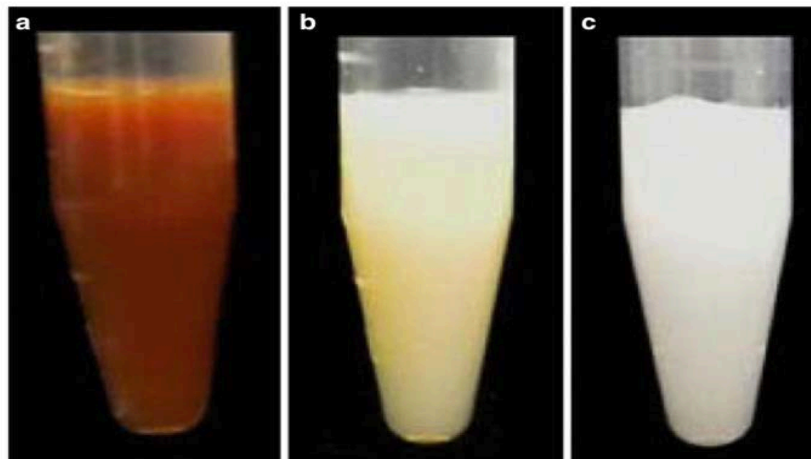


Figura 18: Aspecto visual de las interacciones entre a) 5.25% NaOCl y 2% CHX; b) 0.16% NaOCl y 2% CHX; c) 17% EDTA y 2% CHX (Prado y cols. 2013).

### 1.4.3. Clorhexidina – EDTA

La combinación de clorhexidina y EDTA produce un precipitado blanco. Rasimick y cols. (2008) determinaron si el precipitado implica la degradación química de la clorhexidina. El precipitado se produjo y se volvió a disolver en una cantidad conocida de ácido trifluoroacético diluido. Basándose en los resultados, la clorhexidina forma una sal con el EDTA en lugar de sufrir una reacción química.



Figura 19: La mezcla de EDTA y CHX forma un precipitado blanco (Rasimick y cols. 2008).

### 1.5. TÉCNICAS DE IRRIGACIÓN

Peters y cols. (2001) demostraron que la instrumentación mecánica deja entre el 36% y el 57% de la superficie del canal no instrumentado, que puede, por supuesto albergar organismos patógenos, subproductos y restos de tejido pulpar. Lo que provocaría una mala adaptación del material de obturación (Wu y cols. 2002) y una persistencia de la inflamación perirradicular. Por lo tanto, la irrigación es una parte esencial en el tratamiento endodóntico, ya que permite una limpieza más allá de lo que se lograría sólo con la instrumentación de los conductos. No obstante, a pesar de los largos esfuerzos por desarrollar nuevos dispositivos, soluciones de irrigación y nuevas técnicas de instrumentación, actualmente es imposible lograr una esterilización completa de los sistemas de conductos radiculares.

El hipoclorito de sodio es el irrigante de elección (Dutner y cols. 2012). Para ser efectivo, el NaOCl debe ser usado en grandes cantidades (Thé 1979), estar en contacto con los tejidos (Trepagnier y cols. 1977), ser agitado mecánicamente (Moorer y Wesselink 1982), y ser intercambiado frecuentemente (Baumgartner y Cuenin 1992). Además, el NaOCl debe penetrar en toda la extensión del espacio del conducto radicular, ya que las bacterias que intervienen en el desarrollo y la continuación de la periodontitis apical se localizan sobre todo en los últimos 2 mm apicales (Molven y cols. 1991, Nair 2004). Pero, según los datos experimentales disponibles, el tercio apical parece ser la zona más difícil de limpiar (Senia y cols. 1971), lo que implica que la penetración del irrigante y el intercambio con la jeringa no son fáciles de producir en esta zona. Es obvio que se necesita un mejor conocimiento del comportamiento de la irrigación del sistema de conductos y toda la investigación actual tiende hacia este objetivo. El estudio in vivo de Yana (1989) fue el primero en distinguir las dos modalidades diferentes del proceso de irrigación: la irrigación estática (o pasiva) y la irrigación dinámica (o activa). Por otra parte, Gu y cols. (2009) dividen estos sistemas en dos categorías: técnicas de agitación manual y técnicas que requieren de una unidad mecánica extra para dispensar o agitar el irrigante.

### **1.5.1. Irrigación por presión positiva**

La irrigación convencional con jeringas se ha defendido como un método eficaz de administración de irrigantes antes de la llegada de la activación ultrasónica pasiva (Van der Sluis y cols. 2006). Esta técnica sigue siendo ampliamente aceptada tanto por los odontólogos generales como por los endodoncistas. La técnica consiste en dispensar un irrigante en un conducto a través de agujas/cánulas de calibre variable, ya sea de forma pasiva o con agitación. Esto último se logra moviendo la aguja hacia arriba y hacia abajo en el espacio del conducto. Algunas de estas agujas están diseñadas para dispensar un irrigante a través de sus extremos más distales, mientras que otras están diseñadas para dispensar un irrigante más lateralmente a través de agujas de salida lateral (Kahn y cols. 1995). Por otra parte, una de las ventajas de la irrigación con jeringa es que permite controlar con relativa facilidad la profundidad de la penetración de ésta dentro del conducto y el volumen de irrigante inyectado (Van der Sluis y cols. 2006).

Para la irrigación por presión positiva, se ha sugerido el uso de jeringas de capacidad variable que van de 1 a 20 mL (Abou-Rass y Piccinino 1982, Chow 1983, Haapasalo y cols. 2010). Aunque se ha prestado poca atención al tamaño de la jeringa utilizada, esto puede afectar a la fuerza táctil necesaria para irrigar a un determinado caudal (Boutsioukis y cols. 2007). La dinámica de fluidos elementales puede proporcionar una explicación para este efecto.





Figura 20: Jeringas de irrigación con capacidad variable (de arriba a abajo: 20, 12, 5, 2.5 mL) con rosca de seguridad tipo Luer-lock (Boutsioukis y Van der Sluis 2015).

Mientras se presiona el émbolo de la jeringa, la presión en el interior de esta sigue siendo considerablemente más alta que la presión ambiental alrededor de la punta de la aguja (que es casi atmosférica). Esta diferencia de presión impulsa el irrigante a través de la aguja dentro de los conductos, y es por eso que la irrigación con jeringa se clasifica como una técnica de presión positiva (Brunson y cols. 2010). Se ha recomendado una jeringa de 5 ml como una combinación razonable entre un relleno de irrigante menos frecuente y la facilidad de uso. Esta jeringa puede utilizarse para alcanzar velocidades de flujo de al menos 0.20- 0.25 mL/s incluso cuando se combina con agujas de irrigación finas (Boutsioukis y cols. 2007). Debido a las altísimas presiones que se desarrollan en el interior de la jeringa, siempre es necesario una rosca de seguridad tipo Luer Lock para evitar el desprendimiento accidental de la aguja durante la irrigación (Boutsioukis y cols. 2007).

Los sistemas de presión positiva presentan una serie de desventajas y es que además de la limitación en cuanto a la profundidad de penetración (Ram 1977), el efecto de las jeringas está limitado al conducto principal, conservándose detritus y bacterias en istmos, ramificaciones, deltas apicales o conductos accesorios y laterales (Wu y Wesselink 2001, Wu y cols. 2006, Nair y cols. 2005).

Para que un irrigante sea efectivo es necesario que entre en contacto con toda la superficie del sistema de conductos. Sin embargo, se ha demostrado que las burbujas de aire pueden quedar atrapadas en la parte apical del conducto radicular durante la irrigación con jeringa y bloquear totalmente la penetración del irrigante en esa zona, fenómeno que también se denomina *apical vapor lock* (de Gregorio y cols. 2009, Tay y cols. 2010, Vera y cols. 2011, Vera y cols. 2012, Boutsoukis y cols. 2014). La presencia de una burbuja de aire da lugar a la formación de un sistema de dos fases (irrigante - aire). A pesar de las afirmaciones anteriores (de Gregorio y cols. 2009, Gu y cols. 2009, Tay y cols. 2010), el atrapamiento de burbujas no parece ser un problema importante durante la irrigación con jeringa. La formación y la extensión del *apical vapor lock* depende de los mismos parámetros que afectan a la penetración del irrigante en términos generales: un aumento de la velocidad del flujo del irrigante o caudal, el uso de una aguja de extremo abierto, la inserción de la aguja más cercana a la longitud de trabajo y la ampliación del conducto radicular parecen dar lugar a una burbuja más pequeña. Además, una burbuja atrapada puede eliminarse fácilmente durante la irrigación con jeringa, ya sea mediante la breve inserción de una aguja de extremo cerrado a longitud de trabajo o aumentando la tasa de flujo a 0.26 mL/s. Por lo tanto, parece que no hay necesidad de utilizar sistemas de presión negativa o técnicas de agitación para alcanzar este objetivo (Boutsoukis y cols. 2014).

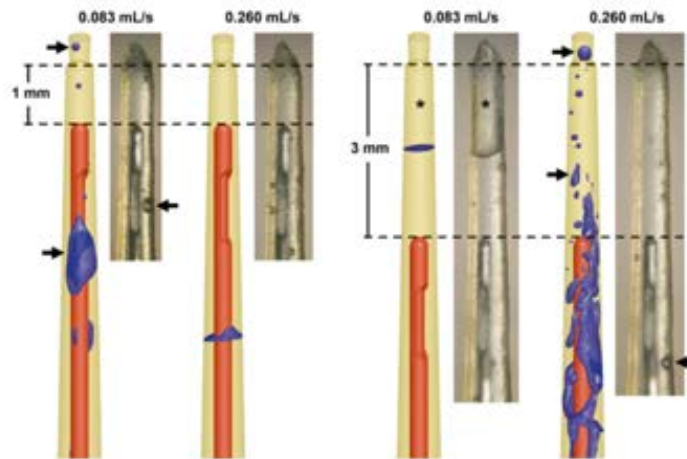


Figura 21: Atrapamiento de burbujas en zona apical de conductos de diámetro 50 y conicidad 0.4. Irrigante suministrado a través de aguja de extremo cerrado 30G a un flujo de 0.083 o 0.260 mL/s (Boutsioukis y cols. 2014).

### 1.5.2. Irrigación por presión negativa

Una propiedad negativa del NaOCl es que puede causar inflamación de los tejidos blandos si se extravasa a los tejidos periapicales (Pashley y cols. 1985). Clínicamente, este evento se manifiesta como dolor e hinchazón localizada o generalizada y el nombre para este evento es “accidente por hipoclorito de sodio” (Hales y cols. 2001). Las complicaciones de la extrusión de NaOCl incluyen incidentes en los senos maxilares (Zairi y Lambrianidis 2008), dolor severo (Oreadi y cols. 2010), celulitis (Wang y cols. 2010), eventos que amenazan la vida (Bowden y cols. 2006), desfiguración facial permanente (Markose y cols. 2009), daño nervioso permanente (Pelka y Petschelt (2008), infección secundaria (Bosch-Aranda y cols. 2011) y lesión renal aguda (Peck y cols. 2014).

En general se cree que la extrusión apical del NaOCl se produce, como describió Pashley (1985), cuando se encaja una aguja de irrigación en el conducto durante la irrigación; sin embargo, dos estudios no están de acuerdo con esta creencia. En primer lugar, en una encuesta realizada a los socios de la Asociación

Americana de Endodoncia, sólo el 20 % de los encuestados que respondieron informaron de que sentían que la aguja estaba encajada en el conducto (Kleier y cols. 2008). En esta misma encuesta se informa de que el 26% de los encuestados habían provocado una sólo vez un accidente por hipoclorito, el 10% dos veces, el 3% tres veces y otro 3% cuatro veces. Por tanto, el 58% restante de encuestados nunca habían provocado un accidente por hipoclorito sódico. En el 73% de los casos, el accidente ocurría en la arcada superior, sobre todo en la zona de los premolares, y fundamentalmente en aquellos casos que presentaban dientes con ápices abiertos, y/o con presencia de una imagen radiolúcida, que alteraba la constricción apical (Kleier y cols. 2008).



Figura 22: Consecuencias de accidente causado por extrusión de hipoclorito sódico a través del ápice de diente 2.5. Fotografía 3 días después del accidente.

La irrigación por presión negativa fue introducida por Fukumoto y cols. (2004, 2005). La presión negativa se refiere a una situación en la que un volumen cerrado tiene una presión menor que la de su entorno. Los sistemas de presión apical negativa tienen la capacidad de succión, por lo que retiran y entregan el irrigante de forma pasiva en el ápice (Gu y cols. 2009). Estos sistemas consisten en liberar el irrigante a utilizar en la cámara pulpar o en la entrada del sistema de conductos a tratar. Mientras el irrigante es liberado hay un sistema de aspiración colocado en el interior del conducto que logra la penetración del líquido hasta el ápice si así lo deseamos. Al poder alcanzar los irrigantes el final del conducto, se logra una mayor remoción de barrillo dentinario y eliminación de microorganismos. Además, con esta técnica conseguimos una circulación permanente del hipoclorito sódico desde la cámara pulpar hasta la zona apical donde vuelve a ser aspirado, siendo el peligro de extrusión inexistente.

Como método de irrigación por presión negativa se ha comercializado el sistema EndoVac® (endodontic vacuum) (Discus Dental, Culver City, CA) creado por Schoeffel en 2008. Este sistema tiene tres partes activa (Nielsen y Baumgartner 2007): macrocánula, microcánula y *Master Delivery Tip* (MDT). La MDT aloja una jeringa de irrigación con una aguja de calibre 20, también hay una campana de succión de plástico alrededor de la aguja de calibre 20 que se conecta a un tubo de plástico transparente el cual se inserta en un adaptador multipuerto; y este último a su vez se introduce en el tubo de succión de alto volumen (Schoeffel 2008). La MDT puede entregar y evacuar simultáneamente cualquier exceso de irrigante que pueda fluir de la cámara pulpar. Por su parte, la macrocánula se utiliza para extraer el irrigante desde la parte coronal y media del conducto. También se puede llevar la macrocánula hasta longitud de trabajo cuando se trata de dientes con ápices inmaduros y paredes finas que dan lugar a un lumen del conducto extramadamente ancho. La macrocánula o microcánula se conecta mediante un tubo de plástico transparente a la succión de alta velocidad de la unidad dental mediante el adaptador multipuerto.

La macrocánula de plástico tiene un diámetro externo de tamaño ISO de 0.55 mm y un diámetro interno de tamaño ISO de 0.35 mm. Está hecha de plástico azul translúcido, tiene una conicidad de 0.02 y está destinada a un solo uso. Se sujeta cómodamente a una pieza manual de aluminio autoclavable y se utiliza en un movimiento de picoteo de arriba a abajo, mientras que el irrigante se suministra simultáneamente de forma pasiva a la cámara pulpar de la manera mencionada anteriormente. Normalmente, se utiliza para eliminar los desechos gruesos y los tejidos que quedan durante la instrumentación.

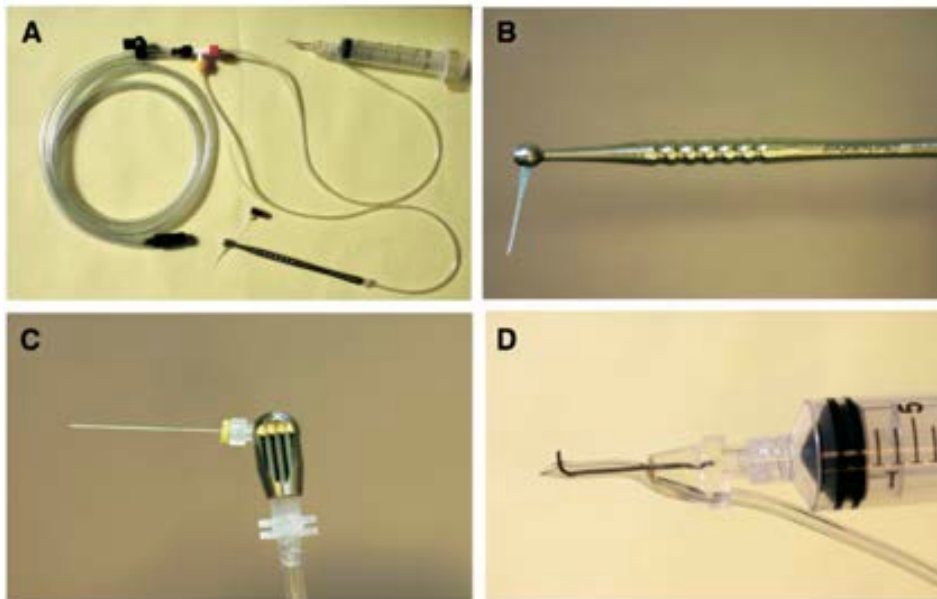


Figura 23: Diferentes partes del sistema EndoVac®. A) MDT y macrocánula unidas al sistema de tubos de aspiración. B) Macrocánula. C) Microcánula. D) MDT (Nielsen y Baumgartner 2007).

La microcánula contiene 12 agujeros microscópicos y es capaz de evacuar el barrillo dentinario en toda la longitud de trabajo (Desai e Himel 2009). Es de acero inoxidable con un diámetro externo de 0.32 mm y conicidad cero. Tiene cuatro conjuntos de tres miniagujeros (12 en total) realizados con láser y colocados lateralmente adyacentes a su extremo cerrado, 100  $\mu$  de diámetro y separados por otras 100  $\mu$ . Estos agujeros actúan como filtros para prevenir la obstrucción del lumen interno de la microcánula, con un diámetro interno de 0.20 mm. Tiene un extremo cerrado y debe ser llevada a la longitud total de trabajo para aspirar irrigantes y desechos. La microcánula puede utilizarse en conductos que se amplían hasta el tamaño ISO 35 con una conicidad de 0.04 o mayor. También se puede considerar una preparación no cónica; en esta situación el fabricante recomienda una ampliación del conducto radicular a 40/02.

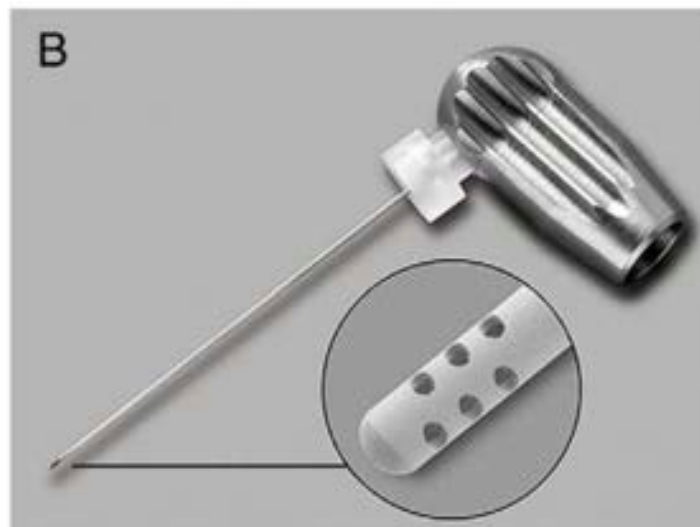


Figura 24: Microcánula de acero inoxidable. La punta de la microcánula (ampliación) presenta 12 agujeros de 100  $\mu$ m que se extienden entre un área de 0.2 -0.7 mm del extremo esférico de la cánula (Desai e Himel 2009).

Posteriormente, se han desarrollado otros sistemas de irrigación por presión negativa con distintas características al sistema EndoVac®. Uno de estos dispositivos recibe el nombre de iNP® (intracanal negative pressure) comercializado por Mikuni Kogyo Co., Inc., (Nagano, Japan). A diferencia del EndoVac®, la iNP® es una aguja de 32 mm de longitud conectada directamente al sistema de aspiración que presenta un diámetro equivalente a 0.46 mm hasta los últimos 4 mm, donde comienza a disminuir su diámetro hasta la zona apical, en la cual presenta 0.36 mm (Jamleh y cols. 2016).

En el año 2017, Castelo-Baz y cols. desarrollaron un dispositivo que denominan CANUI® (continuous apical negative ultrasonic irrigation) diseñado para limpiar y desinfectar el sistema de conductos radiculares. El dispositivo consiste en un tubo dentro de otro tubo que permite el continuo intercambio ultrasónico de irrigante fresco, ya que el irrigante es simultáneamente aspirado apicalmente. Los tubos coronal y apical tienen un diámetro de 0.75 y 0.3 mm, respectivamente. Está compuesto por una microcánula de níquel-titanio adecuada para la longitud de trabajo de los conductos curvos.

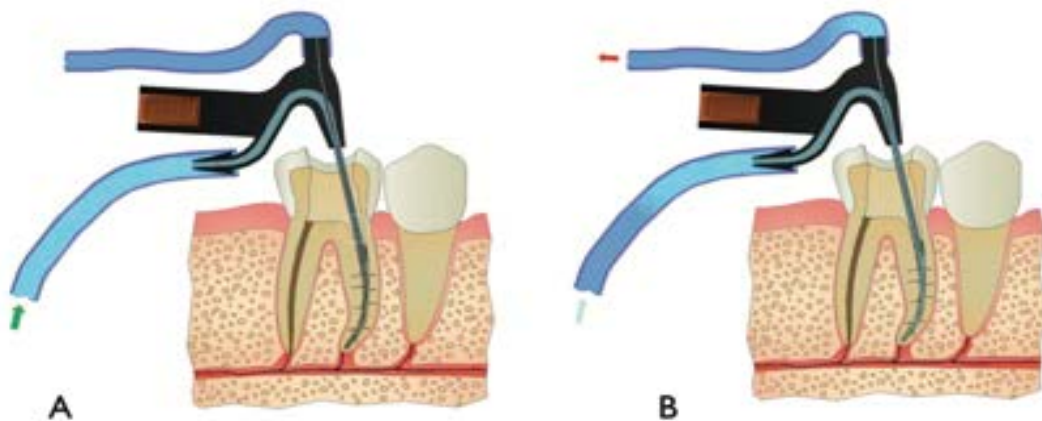


Figura 25: Sistema CANUI®. A) Flujo inicial de irrigante a través del dispositivo, y B) flujo y aspiración del irrigante simultáneamente (Castelo-Baz y cols. 2017).



### 1.5.3. Activación de la irrigación

Se ha demostrado que el uso de un irrigante antiséptico durante la preparación químico-mecánica juega un papel importante para ayudar a erradicar las bacterias intraconducto (Byström y cols. 1983). No obstante, a pesar de los largos esfuerzos por desarrollar nuevos dispositivos, soluciones de irrigación y técnicas de instrumentación, actualmente es imposible lograr una esterilización completa de los sistemas de conductos. Por lo tanto, el objetivo clínico es reducir, en el mejor de los casos, el umbral de la carga bacteriana para permitir que las defensas del huésped se reparen (Siqueira y cols. 2008).

El NaOCl, irrigante de elección, tiene que penetrar en toda la extensión del espacio del sistema de conductos, ya que las bacterias que participan en el desarrollo y la continuación de la periodontitis apical se localizan mayoritariamente en los últimos 2 mm apicales (Molven y cols. 1991, Nair 2004). Pero, según los datos experimentales disponibles, el tercio apical parece ser la zona más difícil de limpiar (Senia y cols. 1971), lo que implica que la penetración del irrigante y el intercambio con la jeringa no son fáciles de producir en esta zona. Por ello es necesario el empleo de técnicas que distribuyan la solución irrigadora hasta aquellas zonas a las cuales los sistemas de instrumentación y la irrigación estática no son capaces de llegar (Hockett y cols. 2008). Como sabemos por los estudios clásicos de Ram (1977), el irrigante sólo puede llegar un milímetro más apical que la punta de la jeringa.

Para una mejor limpieza, desinfección y eliminación de la biopelícula, se dispone de varias técnicas y dispositivos de activación, entre ellos la activación dinámica manual, irrigación ultrasónica pasiva intermitente, irrigación ultrasónica continua, irrigación ultrasónica pasiva, irrigación sónica, activación hidrodinámica, la lima de acabado de plástico, la lima autoajustable, la desinfección fotoactivada y la activación por láser. Cualquiera que sea la técnica de activación, hay que recordar que la agitación es un factor crítico para ayudar a distribuir e intercambiar la solución dentro del espacio del canal y mejorar la eficacia de los antisépticos y los disolventes. Por lo tanto, existe un acuerdo general sobre el beneficio de utilizar la activación del irrigante al final de la preparación del sistema

de conductos, que parece mejorar la limpieza y desinfección en comparación con la administración de la jeringa (Bronnec y cols. 2010).

A lo largo de los años se han realizado continuos esfuerzos por desarrollar sistemas de irrigación y agitación más eficaces para la limpieza de los conductos radiculares. Estos sistemas pueden dividirse en dos grandes categorías, las técnicas de activación manual y los dispositivos de activación asistida por máquinas (Gu y cols. 2009). Podemos encontrar técnicas de activación manual que se realizan con jeringas de irrigación por presión positiva. La técnica consiste en dispensar un irrigante en un conducto a través de agujas o cánulas de calibre variable, ya sea de forma pasiva o con agitación. Esto último se logra moviendo la aguja hacia arriba y hacia abajo en el espacio del conducto. Algunas de estas agujas están diseñadas para dispensar un irrigante a través de sus extremos más distales, mientras que otras están diseñadas para dispensar un irrigante lateralmente a través de extremos cerrados con salida lateral (Kahn y cols. 1995). Este último diseño se ha propuesto para mejorar la activación hidrodinámica de la solución irrigante y reducir la posibilidad de extrusión apical (Hauser y cols. 2007).

Los cepillos son elementos accesorios que han sido diseñados para el desbridamiento de las paredes del conducto o la agitación de los irrigantes. En los últimos años se ha comercializado una aguja de irrigación de calibre 30 cubierta con un cepillo (NaviTip FX®; Ultradent Products Inc, South Jordan, UT). En un estudio reciente se informó de una mejor limpieza del tercio coronal de las paredes de los conductos radiculares instrumentados que se irrigaban y agitaban con la aguja NaviTip FX® sobre el tipo de aguja NaviTip® sin cepillo (Al-Hadlaq y cols. 2006).

Keir y cols. en 1990 también reportaron un mejor desbridamiento de los conductos con el uso de cepillos. Utilizaron el instrumento denominado Endobrush® en un movimiento activo de cepillado y rotación. El Endobrush® (C&S Microinstruments Ltd, Markham, Ontario, Canadá) es un cepillo en espiral diseñado para uso endodóntico que consiste en cerdas de nailon colocadas en alambres retorcidos con un mango adjunto y tiene un diámetro relativamente constante a lo largo de toda su longitud.



Figura 26: Aguja NaviTip FX ®(Ultradent Products Inc, South Jordan, UT).

Por otra parte, la irrigación dinámica manual, en inglés *Manual Dynamic Activation* (MDA), puede realizarse con limas manuales (Druttman y Stock 1989), cepillos (Gu y cols. 2009) o una punta de gutapercha cónica bien ajustada. Hay que tener en cuenta que la MDA comienza en las primeras fases de la preparación del conducto, cuando la primera lima manual de exploración se inserta dentro del canal. Es la progresión apical del instrumento la que mueve el irrigante más allá de la punta, y una vez alcanzada la longitud de trabajo, el movimiento vertical utilizado permite que la solución involucre a todo el espacio del sistema de conductos. Durante la conformación de los conductos, el uso repetido de una lima de permeabilidad después de cada instrumento rotatorio ayuda a romper las burbujas de gas (*apical vapor lock*) y mueve el irrigante fresco en los últimos milímetros apicales (Vera y cols. 2012).

En 1980 Machtou propuso el uso sistemático de un cono de gutapercha maestro bien ajustado al final del procedimiento de conformación para agitar la solución de irrigación y permitir que ésta abarcara toda la longitud del conducto radicular. La MDA es una forma sencilla pero rentable de ayudar al irrigante a entrar en contacto con las paredes del sistema de conductos, alcanzar la porción apical y desplazar el efecto apical vapor lock. Genera mayores cambios de presión intracanal durante el movimiento de entrada y salida del cono de gutapercha, y la frecuencia de los golpes crea turbulencias y mejora la difusión por tensiones de cizallamiento. La presencia de un fino espacio de reflujo entre el cono y las paredes del conducto es fundamental para permitir que el irrigante vuelva a fluir a lo largo del cono e inducir un efecto hidrodinámico efectivo (Figura 27). Por último, la MDA facilita la mezcla de la solución de irrigación fresca con la solución estancada en los milímetros apicales (Bronnec y cols. 2010).



Figura 27: Agitación del cono de gutapercha e interrupción del *vapor-lock* (Machtou 2015).

Dentro de la activación asistida por máquinas comenzaremos por describir la técnica con cepillos rotatorios. Los microcepillos creados por Ruddle en 2001 incluyen un eje y una sección de cepillo cónico. Puede girar aproximadamente a 300 rpm desplazando los residuos hacia la parte coronal del conducto.

Por su parte, el CanalBrush® (Coltene Whaledent, Langenau, Alemania) es un microcepillo muy flexible de polipropileno que puede ser usado manualmente con una acción rotatoria. Sin embargo, es más eficaz cuando se conecta a un contra-ángulo que funciona a 600 rpm. El artículo de Weise y cols (2007) mostró que el uso del CanalBrush® con una solución irrigante removía los debris de las extensiones e irregularidades simuladas del conducto.

Existe otra técnica denominada irrigación continua durante la instrumentación rotatoria. El sistema de irrigación Quantec-E® (SybronEndo, Orange, CA) es una unidad autónoma de suministro de soluciones irrigadoras que se conecta al sistema Quantec-E Endo® para proporcionar una irrigación continua durante la instrumentación rotatoria (Walters y cols. 2002). En comparación con la irrigación con agujas, la irrigación con Quantec-E® dio lugar a paredes de canal más limpias y a una eliminación más completa de los desechos y la capa de frotis en el tercio coronal de las paredes del sistema de conductos. Sin embargo, estas ventajas no se observaron en los tercios medio y apical (Walters y cols. 2002, Setlock y cols 2003).

Por su parte, Tronstad y cols. fueron los primeros en informar sobre el uso de un instrumento sónico para la endodoncia en 1985. La irrigación sónica opera a una frecuencia entre 1-6 kHz y produce menores fuerzas de cizallamiento que la ultrasónica (Ahmad y cols. 1987). La energía sónica también genera una amplitud significativamente mayor o un superior movimiento de ida y vuelta de la punta. Una oscilación mínima de la amplitud podría considerarse un nodo, mientras que una oscilación máxima de la amplitud representa un antinodo. Tienen 1 nodo cerca de la conexión de la lima y 1 antinodo en la punta de esta (Walmsley y cols. 1989). Cuando se limita el movimiento de la lima sónica, la oscilación lateral

desaparece, esto resulta en una oscilación longitudinal pura de la lima. Se ha demostrado que este modo de vibración es particularmente eficaz para el desbridamiento de los conductos radiculares, ya que no se ve afectado en gran medida por la carga y presenta grandes amplitudes de movimiento (Walmsley y cols. 1989).

Se ha evaluado la eficacia de la activación sónica/subsónica de los irrigantes como una manera de mejorar la limpieza de los conductos. Por definición, la frecuencia sónica es cualquier cosa en el rango auditivo de un humano. Los principales sistemas disponibles para producir agitación sónica/subsónica son la pieza de mano Micromega Sonic Air® 1500 con una lima Rispi-Sonic® adjunta (Medidenta International Inc.); el sistema EndoActivator® con puntas poliméricas adjuntas (Dentsply Tulsa Dental Specialties) y el sistema de irrigación sónica Vibringe® (Vibringe B.V.).

La unidad Sonic Air® 1500 es un dispositivo accionado por aire que produce vibraciones que oscilan entre 1.500 y 3.000 Hz (según datos del fabricante). Las limas Rispi-Sonic® son de acero inoxidable y tienen púas a lo largo de la longitud de la lima en un diseño en espiral. Esta lima está diseñada para cortar la dentina, así como para agitar la solución de irrigante intraconducto. El irrigante es suministrado y refrescado de manera intermitente a través del suministro de la aguja y no por la pieza de mano.

El sistema EndoActivator® es una pieza de mano portátil a pilas con 3 velocidades distintas. Consta de tres puntas desechables de diferente tamaño (15/.02, 25/.04, 35/.04). Las frecuencias de funcionamiento fueron reportadas por Jiang y cols. (2010) como 160, 175 y 190 Hz. Estas frecuencias son diferentes de las que indica el fabricante que son 33, 100 y 167 Hz.



Figura 28: EndoActivator® con puntas poliméricas adjuntas (Dentply Sirona, York, Pensilvania, Estados Unidos).

El sistema de irrigación Vibringe® consiste en un émbolo que funciona con pilas y un anillo para el dedo pulgar que se coloca en una jeringa de nylon desechable de 10 ml. Se adjunta una aguja de irrigación endodóntica, de tamaño variable según la preparación del conducto radicular. A medida que el irrigante se introduce en el conducto, el anillo del pulgar se activa causando la vibración de la aguja de irrigación. La frecuencia de agitación que indica el fabricante es de 150 Hz (Nusstein 2015).

Las puntas EDDY® (VDW, Munich, Germany), son impulsadas a una alta frecuencia de hasta 6.000 Hz por una pieza de mano específica. La vibración producida se transfiere a la punta de poliamida que, gracias a las cualidades especiales del material, produce un movimiento oscilante de gran amplitud. Este movimiento tridimensional desencadena la cavitación y el flujo acústico que se atribuye a una mayor eficacia de limpieza (datos aportados por el fabricante). De esta forma, Conde y cols. en 2017 no encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la disolución de tejido orgánico en reabsorciones internas simuladas entre la irrigación ultrasónica pasiva y las puntas EDDY®.

Por su parte, Richman en 1957 fue el primero en informar sobre la aplicación del ultrasonido en el campo de la endodoncia. Utilizó una unidad dental

ultrasónica llamada Cavitron® llegando a la conclusión de que estos casos que se trataban con la unidad ultrasónica no daban lugar a secuelas postoperatorias adversas, por lo que el uso de los ultrasonidos en la terapia del canal radicular era muy prometedor.

Martin y Cunningham (1984) concluyeron que la preparación endosónica de los conductos radiculares era superior a la preparación manual en cuanto al desbridamiento químico-mecánica, la desinfección y el modelado final de los conductos. Se informó de que la lima sometida a la energía de los ultrasonidos permitía instrumentar rápidamente la pared de los conductos de manera más eficiente y con menos fatiga del operador. El irrigante "activado por ultrasonido" facilitaba las acciones de limpieza y desinfección dentro del sistema de conductos radiculares. En comparación con la energía sónica, la energía ultrasónica produce altas frecuencias, pero bajas amplitudes (Walmsley y cols. 1989). Las limas están diseñadas para oscilar a frecuencias ultrasónicas de 25-30 kHz, que están más allá del límite de la percepción auditiva humana (<20 kHz). De tal forma que operan por medio de una vibración transversal, estableciendo un patrón característico de nodos y antinodos a lo largo de su longitud (Walmsley y cols. 1989, van der Sluis y cols. 2007).

En la literatura se han descrito dos tipos de irrigación ultrasónica. El primer tipo es la combinación de instrumentación ultrasónica simultánea e irrigación (UI: ultrasonic irrigation). El segundo tipo, a menudo denominado irrigación ultrasónica pasiva (PUI: passive ultrasonic irrigation), funciona sin instrumentación simultánea. El término PUI fue utilizado por primera vez por Weller y cols. (1980) para describir un escenario de irrigación en el que no había instrumentación, cepillado o contacto de las paredes del conducto con una lima o instrumento endodóntico (Jensen y cols. 1999). Con esta tecnología no cortante, se redujo el potencial de crear formas aberrantes intraconducto. Durante la PUI, la energía se transmite desde una lima oscilante o un alambre liso al irrigante por medio de ondas ultrasónicas. Estas últimas inducen una corriente acústica y la cavitación del irrigante (Ahmad y cols. 1987, Ahmad y cols. 1987b, Ahmad y cols. 1988).



Cuando una onda ultrasónica se proyecta en el líquido, se crea una presión negativa que causa la fractura del líquido, un proceso conocido como cavitación. Este término fue introducido en endodoncia en 1984 por Martin y Cunningham. La cavitación crea burbujas que oscilan en las ondas ultrasónicas proyectadas. A medida que las ondas ultrasónicas continúan, estas burbujas se agrandan y se vuelven muy inestables, colapsando finalmente en una violenta implosión que aumenta la temperatura del irrigante; este hecho unido al movimiento del fluido hace que la PUI tenga mayor eficacia. Por su parte, otros autores (Walmsley 1987, Ahmad y cols. 1988, Lumley y cols. 1991b) concluyen que el fenómeno de cavitación puede que no ocurra o que si sucede, no produzca grandes beneficios en cuanto a la activación de la irrigación.

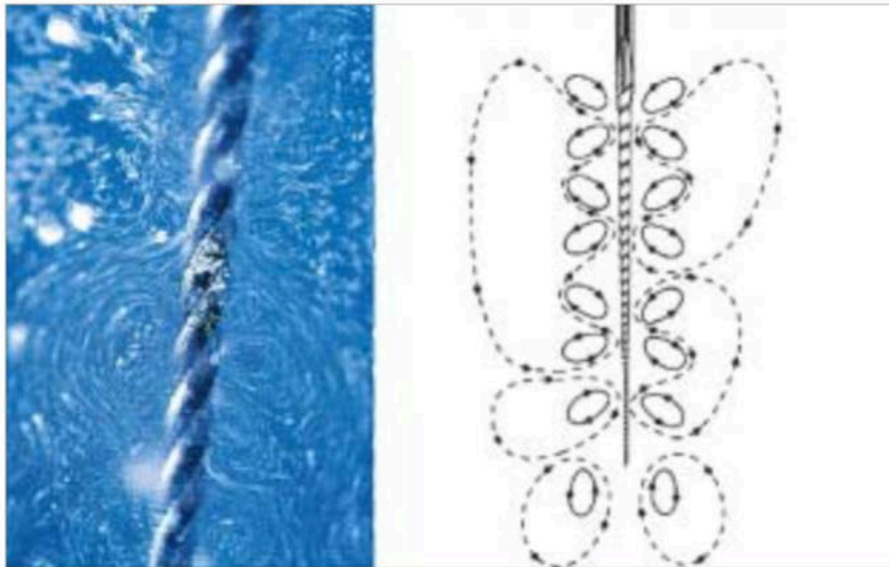


Figura 29: Corriente acústica alrededor de una lima (izquierda) y un dibujo esquemático modificado del trabajo de Ahmad y cols. del año 1992 (Van der Sluis 2007).

Las implosiones anteriormente mencionadas irradian ondas de choque de alta potencia que se disipan repetidamente a una velocidad de 25.000~30.000 veces por segundo (25- 30 kHz). Las ondas de choque que son generadas por la implosión viajan a velocidades superiores a los 800 km/h dentro del fluido y este fenómeno se denomina corriente acústica (Walmsley 1987). La amplitud del movimiento será mayor a medida que nos acerquemos a la punta del instrumento. Cuando la punta ultrasónica empleada para activar la irrigación, roza con las paredes, el efecto de la microcorriente acústica se ve disminuido, aunque nunca llega a desaparecer.

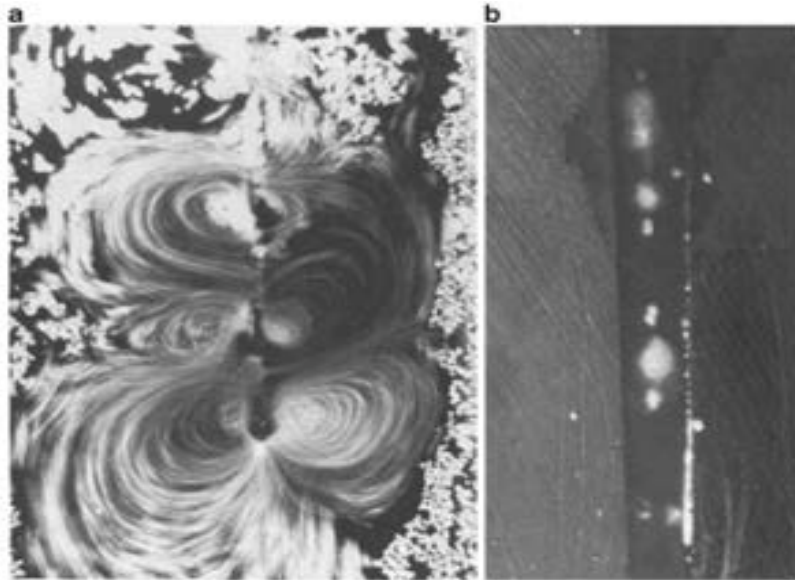


Figura 30: (a) Corriente acústica generada alrededor de una lima de movimiento libre y (b) dentro de un espacio de un conducto radicular simulado (Ahmad y cols. 1992).

La palabra “pasiva” del término irrigación ultrasónica pasiva indicaba que no había una extracción activa o intencionada de dentina. Lamentablemente, aunque no se hace ningún intento de contactar o alterar las paredes del conducto radicular, se produce el contacto del instrumento ultrasónico oscilante en la pared. Debido a ello, el término irrigación activada por ultrasonido (UAI: Ultrasonic Activation Irrigation) fue sugerido recientemente por Boutsoukis y cols. (2013).

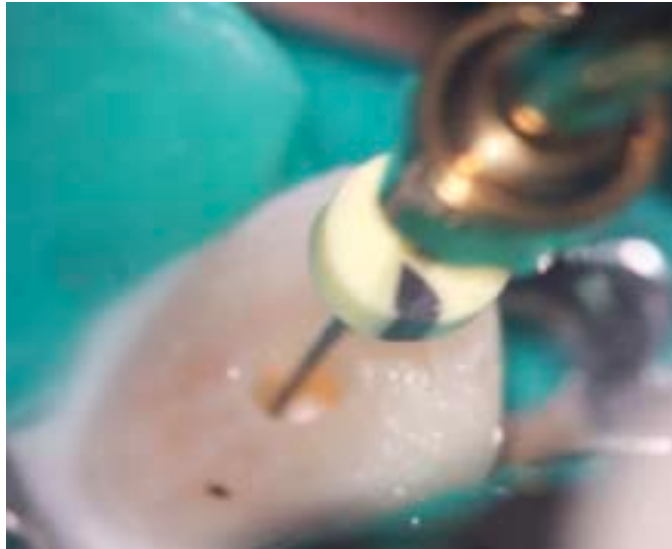


Figura 31: Situación clínica donde podemos observar el aditamento ultrasónico realizando un procedimiento de activación ultrasónica pasiva (PUI) o activación ultrasónica de la irrigación (UAI).

## 1.6. FACTORES QUE AFECTAN A LA EFICACIA DEL NAOCL

### 1.6.1. Concentración y temperatura

Ha sido ampliamente reportado en la literatura que el aumento de la concentración y la temperatura de la solución de hipoclorito sódico aumenta su efectividad. Los primeros estudios al respecto (Abou-Rass y Oglesby 1981) comparan la eficacia de esta solución al 2.6 y 5.6 % a diferentes temperaturas (30°C y 60°C) en cuanto a su capacidad de disolver tejido conectivo de ratas de laboratorio. Los resultados del estudio indican que al aumentar la concentración de la solución también aumenta la disolución de tejido conectivo. Por otra parte, si se mantenía constante la concentración y la temperatura se elevaba de 30 a 60 grados centígrados también aumentaba la capacidad disolutiva de dicha solución. Más de dos décadas después Sirtes y cols. (2005) compararon la eficacia del NaOCl a 5.25 % a diferentes temperaturas (20°C, 45°C y 60°C). En este estudio se observan diferencias estadísticamente significativas entre el hipoclorito sódico a una concentración de 5.25 % a 20°C y la misma solución calentada a 60°C en cuanto a su capacidad de disolución tisular.

Posteriormente, tanto Rossi-Fedele y De Figueiredo (2008) como Stojicic y cols. (2010) estudiaron el impacto de la activación, la concentración y los cambios de temperatura del hipoclorito sódico en tejido bovino. Los dos estudios coinciden en la importancia de elevar la temperatura de la solución de NaOCl para conseguir mayor efectividad como irrigante endodóntico. También enfatizan en la importancia de la constante renovación del irrigante ya que la clorina, principal responsable de la capacidad disolutiva y bactericida del hipoclorito sódico pierde estabilidad con el paso del tiempo.

Recientemente Haapasalo y cols. (2014) realizaron un estudio comparando soluciones de hipoclorito de sodio a 0.5%, 3% y 6% a temperatura ambiente (21°C) y a 40°C. También compararon la capacidad disolutiva de dichas soluciones a ambas temperaturas si la solución era dispensada solamente con jeringa y aguja convencional o con diferentes sistemas de activación y presión negativa. Con tal fin, expusieron tejido muscular bovino durante 5 minutos a las diferentes soluciones y sistemas. El estudio concluyó que en todos los dispositivos de irrigación probados, la tasa de disolución tisular aumentó cuando se presentaba una mayor concentración y temperatura de la solución de NaOCl (Figura 32).

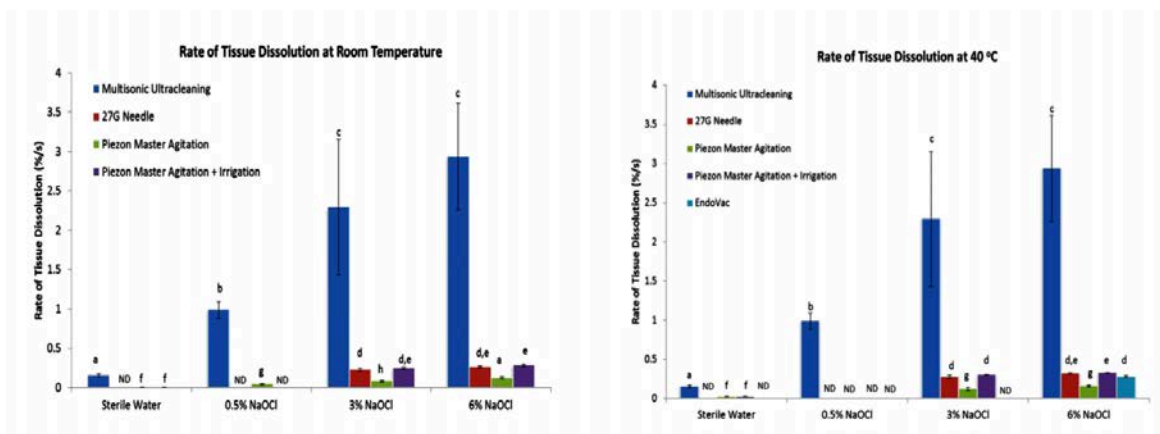


Figura 32: Comparación del grado de disolución tisular conseguido por la solución de NaOCl a diferentes temperaturas y concentraciones (Haapasalo y cols. 2014).

### 1.6.2. pH

El pH del hipoclorito sódico no tamponado es de 12 y a una concentración de 5.25%, es muy hipertónico (Pashley y cols. 1985). La solución utilizada originalmente por Dakin (1915) era hipoclorito de sodio tamponado al 0.5% con bicarbonato de sodio a un pH de 9 (Dakin 1915, Spangberg y cols. 1973). Se descubrió que esta solución era más agresiva en los tejidos necróticos que en los vitales (Austin y Taylor 1918). De hecho, el hipoclorito de sodio tamponado al 0.5% tiene una citotoxicidad considerablemente menor en comparación con la lejía comercialmente disponible al 5.25%, pero el efecto antimicrobiano se mantiene (Spangberg y cols. 1973). Estos últimos hallazgos llevaron a la conclusión de que la solución de Dakin era preferible a la lejía sin tamponar como solución de irrigación endodóntica (Spangberg 2002). Sin embargo, ni la agresividad sobre los tejidos ni el potencial antimicrobiano en los conductos radiculares se han evaluado directamente con la solución de Dakin o el hipoclorito de sodio sin tamponar en la misma concentración de cloro disponible.

En el estudio de Zehnder y cols. (2002), el hipoclorito de sodio no tamponado se probó frente a soluciones tamponadas a diferentes niveles de pH para determinar el potencial de disolución en tejidos frescos y deteriorados utilizando un modelo in vitro histológicamente verificado para el deterioro de los tejidos. Además, se comprobó la eficacia bactericida de la solución de Dakin y del hipoclorito de sodio sin amortiguador contra el *Enterococcus faecalis*. Este estudio concluye que no parece haber ninguna diferencia clínicamente relevante en la actividad antimicrobiana entre el hipoclorito de sodio no tamponado y la solución de Dakin.

El NaOCl se disocia en el agua en  $\text{Na}^+$  y  $\text{OCl}^-/\text{HOCl}$  (ácido hipocloroso). El valor pKa del hipoclorito es de 7.6. (Smith y Martell 1976). Esto significa que en el pH del hipoclorito sin tamponar y de la solución de Dakin, el cloro libre disponible ( $\text{OCl}^- + \text{HOCl}$ ) existe casi enteramente como  $\text{OCl}^-$ . Sin embargo, se ha demostrado claramente que el HOCl es la forma más bactericida de esta molécula (Bloomfield y Miles 1979). Por lo tanto, el tamponamiento de una solución de hipoclorito puede ser beneficiosa sólo a un pH ligeramente ácido.

Hasta el año 2008 (Christensen y cols.) era desconocido el efecto de un pH más bajo sobre la capacidad disolutiva del hipoclorito sódico. El propósito del estudio de Christensen y cols. (2008) fue evaluar la capacidad disolutiva del NaOCl a pH 9 y pH 6 frente al pH 12 suministrado comercialmente. Para ello tejido muscular porcino fue utilizado para probar la capacidad de disolución del NaOCl a diferentes medidas de pH, concentración y tiempo. El tiempo testado fue de 5, 15 y 30 minutos, realizándose todos los procedimientos a temperatura ambiente (25°C). Cuando se comparan las concentraciones de 5.25% y 2.6% de NaOCl dentro de grupos con el mismo pH y sin tener en cuenta el intervalo de tiempo, el porcentaje de pérdida de tejido fue estadísticamente significativo a favor de la mayor concentración a pH 12 y 9. Cuando el pH descendió a 6, no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de 5.25% y 2.6% de NaOCl. Estos resultados refuerzan el concepto de que la concentración del hipoclorito sódico es un factor determinante en su capacidad disolutiva a pH 12 y 9.

Posteriormente Jungbluth y cols. (2011) realizaron un estudio cuyo objetivo fue comparar una solución estándar de NaOCl al 5% con otra solución de NaOCl de la misma concentración que se estabilizó a un pH alto. Los resultados mostraron que el efecto proteolítico fue más fuerte en el hipoclorito sódico estabilizado con NaOH, lo cual sugiere que estas soluciones podrían disminuir el tiempo requerido para el desbridamiento químico del tejido orgánico. En contrapartida, las soluciones de NaOCl estabilizadas con NaOH infligen más daño a la dentina que sus homólogas estándar y podrían ser potencialmente más caústicas.

### 1.6.3. Características del sistema de conductos

Para que el hipoclorito sódico sea eficaz tiene que contactar con la materia. Senia y cols. demostraron en el año 1971 que la disolución de materia orgánica conseguida por el NaOCl en los últimos 3 milímetros de los conductos radiculares de molares inferiores es muy limitada y dependiente del diámetro apical. Por su parte, Salzgeber y Brilliant (1977) confirmaron esta teoría en un estudio *in vivo* analizando la penetración de un contraste (Hypaque 50% - Diatrizoato sódico) a lo largo de conductos instrumentados de raíces tanto vitales como necróticas. Chow (1983) concluyó que la extensión apical del irrigante depende de la profundidad de inserción de las agujas de irrigación, y por lo tanto agujas de pequeño calibre permiten acercarse más al irrigante a la zona apical. Con mayor exactitud Ram (1977) concluyó que la penetración de la solución irrigante únicamente alcanzaba 1 mm más allá de la punta de la aguja de irrigación.

La bibliografía a lo largo de los años y los últimos avances en el campo del estudio tridimensional de los sistemas de conductos han demostrado lo complicado que es alcanzar las complejas zonas anatómicas de los diferentes conductos radiculares (Gambil y cols. 1996, Rhodes y cols. 2000, Peters y cols. 2001, Bergmans y cols. 2002, Bergmans y cols. 2003, Hübscher y cols. 2003, Gulabivala y cols. 2006, Versiani y cols. 2011, Siqueira y cols. 2013). La preparación de conductos de sección transversal ovalada, aplanada o irregular utilizando diferentes instrumentos ha demostrado dejar extensiones o hendiduras no preparadas que pueden albergar restos de tejido pulpar necrótico y biopelículas (Wu y cols. 2000, Siqueira y cols. 2013). Los efectos desinfectantes de los instrumentos endodónticos y soluciones irrigantes pueden verse obstaculizados adicionalmente en presencia de anatomía compleja como pueden ser: conductos accesorios, ramificaciones apicales, conexiones entre conductos de una misma raíz, aletas, istmos y deltas apicales; a los que no se puede acceder y limpiar adecuadamente mediante las técnicas convencionales (Mannocci y cols. 2005, Fan y cols. 2010, Somma y cols. 2009, Gu y cols. 2009, Siqueira y cols. 2013).



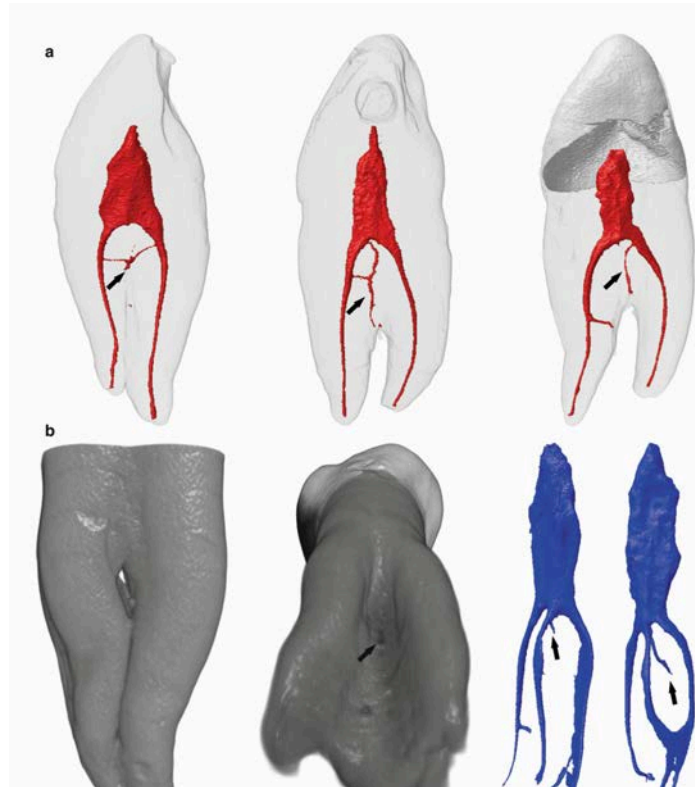


Figura 33: a) Conductos accesorios conectan la cámara pulpar con el ligamento periodontal en la zona furcal de un canino mandibular birradicular. b) Compleja anatomía de un premolar con istmos, conductos accesorios y deltas apicales (Ordinola-Zapata y cols. 2019).

#### 1.6.4. Agujas de irrigación

Se utilizan agujas de distintos tipos para introducir irrigantes en los conductos radiculares (Goldman y cols. 1976, Hülsmann y cols. 2009, Boutsoukis y cols. 2010). Estas agujas se diferencian principalmente por la presencia de una punta abierta o cerrada y una o más salidas (Figura 34).

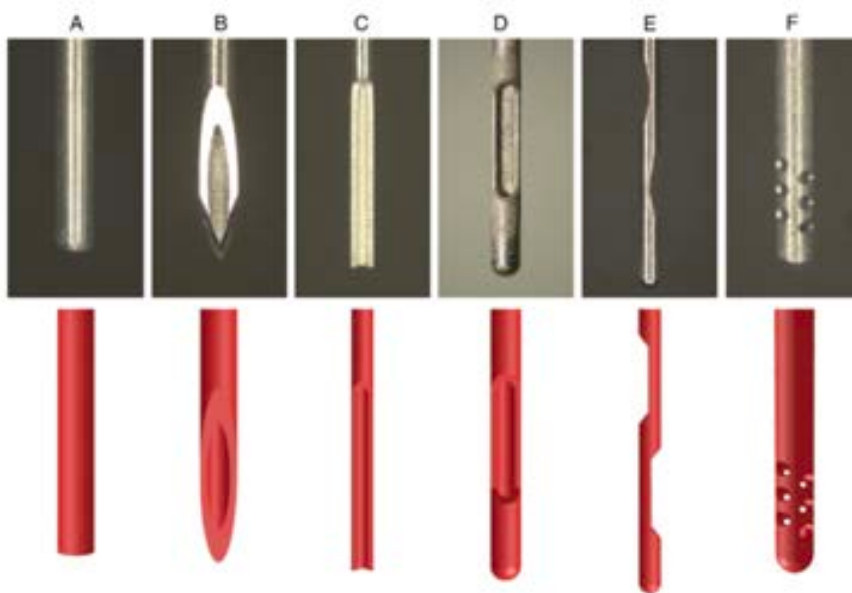


Figura 34: Diferentes tipos de agujas 30G. Agujas de extremo abierto: A) plana, B) biselada, C) mellada o de muesca. Agujas de extremo cerrado: D) salida lateral, E) doble salida lateral, F) multiventana (Boutsoukis y cols. 2010).

Al igual que todas las demás agujas médicas, los tamaños de las agujas de irrigación se describen con mayor frecuencia mediante el sistema de calibre (Figura 35) y parecen ajustarse bien a la especificación pertinente de la ISO (Boutsioukis y cols. 2007b). Sin embargo, las unidades *gauge* no pueden compararse directamente con el tamaño de los instrumentos y los materiales de obturación. La adopción del milímetro como unidad métrica estándar para expresar el tamaño de la aguja, ya recomendada por la ISO desde hace casi dos décadas (ISO 2001), y la elaboración de un código de colores correspondiente al de los instrumentos endodónticos podrían ser de gran ayuda en los procedimientos clínicos (Boutsioukis y cols. 2007b).

ISO 9626:1991/Amd.1:2001 (Medical needles)					
Gauge size	Metric size (mm)	External diameter (mm)		Int. diameter (mm)	Instrument size
		Min	Max	Min	
21	0.80	0.800	0.830	0.490	80
23	0.60	0.600	0.673	0.317	60
25	0.50	0.500	0.530	0.232	50
27	0.40	0.400	0.420	0.184	40
28	0.36	0.349	0.370	0.133	40
29	0.33	0.324	0.351	0.133	35
30	0.30	0.298	0.320	0.133	30
31	0.25	0.254	0.267	0.114	25

Figura 35: Especificaciones de las agujas médicas según ISO 9626:1991/Amd. 1:2001 y el tamaño correspondiente de los instrumentos endodónticos finales (Boutsioukis y Van der Sluis 2015).

El intercambio de irrigantes en las diversas partes del sistema de conductos es un requisito crucial para un efecto químico adecuado (Druttman y Stock 1989, Moorer y Wesselink 1982, Haapasalo y cols. 2005). El tipo de aguja también parece tener un efecto significativo en la extensión del intercambio apical de irrigantes. Estudios recientes han aclarado las limitaciones de las agujas de extremo cerrado en cuanto a la renovación del irrigante en la zona apical y han demostrado claramente su inferioridad respecto a las agujas de extremo abierto. En las mismas condiciones, las agujas de extremo cerrado siempre son menos eficaces para el intercambio apical de irrigantes que las agujas de extremo abierto (Boutsioukis y cols. 2009, Boutsioukis y cols. 2010a, Boutsioukis y cols. 2010b, Verhaagen y cols. 2012).

Está muy bien documentado en la literatura la conclusión generalizada de que la colocación de las agujas más cerca de la longitud de trabajo (LT) da lugar a un intercambio más eficaz de los irrigantes, independientemente de otros parámetros (Chow 1983, Sedgley y cols. 2005, Hsieh y cols. 2007, Boutsioukis y cols. 2010b, Bronnec y cols. 2010). Además, el aumento del tamaño y/o la conicidad de la preparación también mejora el refresco de los irrigantes (Falk y Sedgley 2005, Huang y cols. 2008, Boutsioukis y cols. 2010c, Boutsioukis y cols. 2010d, Bronnec y cols. 2010), además de permitir la colocación de las agujas más cerca de LT (Abou-Rass y Piccinino 1982)

#### **1.6.5. Patency**

La eliminación del tejido orgánico y la reducción de la carga microbiana siguen siendo una tarea difícil, especialmente en el tercio apical del sistema de conductos, debido a las irregularidades anatómicas que comprometen la acción de los irrigantes y los instrumentos de conformación (Haapasalo y cols. 2005).

Por lo tanto, se ha establecido que para limpiar con éxito esta zona apical, los irrigantes deben poder penetrar en toda la longitud del conducto radicular, que debe mantenerse libre de desechos empaquetados.

Un método popular para evitar la acumulación de tejidos y detritus es el uso de una lima de permeabilidad. Esta se ha descrito en numerosos textos y artículos como el uso de una lima de pequeño calibre (lima k#10, lima k#15) que se inserta pasiva e intencionadamente 1 mm a través del foramen, evitando así la formación de salientes, bloqueos y tal vez perforaciones en esta área crucial (Schilder 1974, Buchanan 1991, Flanders 2002, American Association of Endodontists 2003, Berutti y Castellucci 2005).

Lo ideal sería que la lima de permeabilidad impidiera que los restos de dentina se compactaran en la porción apical del conducto radicular y bloquearan el acceso a esta zona para los instrumentos endodónticos e irrigantes (Al-Omari y Dummer 1995), así como que se mantuviera abierto el foramen en caso de que se necesitara un drenaje de los tejidos periapicales (Pantera 1994).

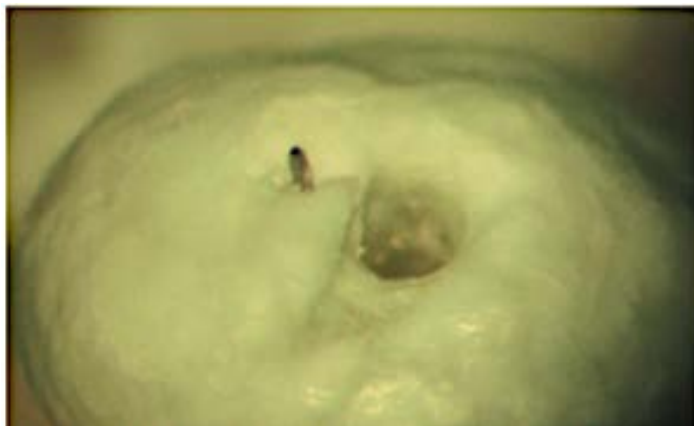


Figura 36: El instrumento penetra en el foramen apical más pequeño, al que en ocasiones es más fácil acceder por una ruta directa, mientras tanto la abertura apical más grande permanece sin instrumentar (Hülsmann y Schäfer 2009).

### 1.6.6. Agentes tensoactivos

Durante la irrigación de los conductos radiculares contactan un líquido sobre un sólido que es la dentina. Para lograr una buena adaptación entre ambos de forma que el irrigante actúe sobre el sólido, es necesario la existencia de tres factores: la energía superficial, la humectancia y el ángulo de contacto. Una solución química para el uso endodóntico debe mostrar una humectabilidad sustancial, lo que aumenta su capacidad disolvente y mejora la actividad antimicrobiana en áreas no instrumentadas del sistema de conductos radiculares (Giardino y cols. 2006). La humectabilidad de un líquido puede evaluarse midiendo el ángulo de contacto de dicho líquido con una superficie sólida y su tensión superficial (Steenbecker y cols. 2006).

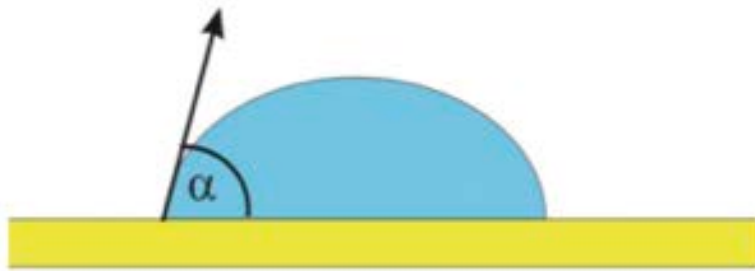


Figura 37: Alfa= ángulo de contacto

Los irrigantes deben estar en contacto con las paredes de la dentina y los detritus. La intimidad de este contacto depende de la humectabilidad del irrigante sobre la dentina sólida; y esta propiedad del líquido está estrictamente correlacionada con su tensión superficial (Pécora y cols. 1999).

La tensión superficial se define como "la fuerza entre las moléculas que produce una tendencia a la disminución de la superficie de un líquido" (Tasman y cols. 2000). Esta fuerza tiende a limitar la capacidad del líquido para penetrar en un tubo capilar. Los irrigantes para uso endodóntico deben tener una tensión superficial muy baja. La humectabilidad de la solución rige la capacidad de su penetración tanto en los conductos principales y laterales, como en los túbulos dentinarios (Glantz y Hansson 1972, Cameron 1986). Al mejorar la humectabilidad, una solución irrigante podría aumentar su capacidad disolvente y permitir una mejor actividad antimicrobiana en las zonas no instrumentadas del sistema de conductos (Glantz y Hansson 1972).

Podemos encontrar sustancias denominadas surfactantes o agentes tensioactivos. Son compuestos que disminuyen la tensión superficial de un líquido, la tensión interfacial entre dos líquidos o entre un líquido y un sólido. Los surfactantes pueden actuar como detergentes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes espumantes y dispersantes. Estos compuestos orgánicos son anfifílicos, es decir, contienen tanto grupos hidrofóbicos como hidrofílicos (Rosen y Kunjappu 2012).

La modificación del NaOCl mediante la adición de agentes tensioactivos aumenta la capacidad de este irrigante para penetrar en el conducto radicular principal *in vitro* (Abou-Rass y Patonai 1982, Cunningham y cols. 1982). La adición de estos agentes modifica la estabilidad del hipoclorito de sodio (Cameron 1986, Cunningham y cols. 1982).

La búsqueda de una solución de irrigación con propiedades antimicrobianas, la capacidad de disolver tejidos y la biocompatibilidad concomitante con los tejidos periapicales sigue siendo objeto de muchos estudios. Sin embargo, muy pocos trabajos científicos han abordado el efecto potencial de la tensión superficial de las soluciones de irrigación en el éxito general del tratamiento endodóntico (Cameron 1986, Abou-Rass y Patonai 1982)

Abou-Rass y Patonai (1982) descubrieron que el Polisorbato 80 reducía la tensión superficial del agua destilada, alcohol, NaOCl y EDTA entre un 15 y un

20%, lo que aumentaba el flujo y la penetración de estas soluciones en los conductos in vitro. Años más tarde, Cameron (1986) demostró que la tensión superficial del NaOCl al 4% se reduce de 70 mN/m a 27 mN/m mediante la adición de un surfactante fluoroquímico al 0.1%, el Fluorad FC99. En los últimos años se han desarrollado otros productos como Qmix (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK), Hypoclean (Ogna Laboratori Farmaceutici, Muggiò, Italy) o Chlor-XTRA (Vista Dental Products, Racine, Wisconsin, USA) los cuáles el fabricante no indica cuál es el surfactante de la solución, aunque hay trabajos como el de Rossi-Fedele y cols. (2013) el cuál sugiere que el agente tensoactivo puede ser el cloruro de benzalconio o la cetrimida.



Figura 38: Bote de 60 mL con la solución irrigadora QMix® (Dentsply Sirona, York, Pensilvania, Estados Unidos).



## **II. JUSTIFICACIÓN**



## 2 - JUSTIFICACIÓN

### 2.1. INTERÉS DEL ESTUDIO

Richard Bence (1980) definió la endodoncia como la especialidad de la odontología que se dedica al diagnóstico y tratamiento de las enfermedades de la pulpa y los tejidos periapicales. Por su parte, la Asociación Americana de Endodoncia (1987) define esta rama de la odontología como aquella que concierne a la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental humana y los tejidos perirradiculares.

La endodoncia contemporánea ha visto un avance sin precedentes en la tecnología y los materiales sobre todo en los siguientes campos: técnicas de imagen aplicadas a la endodoncia, preparación del sistema de conductos con nuevos y múltiples sistemas de instrumentación rotatoria de distintos diseños y materiales; desinfección de los conductos radiculares por medio de nuevos productos coadyuvantes así como novedosas técnicas de irrigación y activación de los irrigantes; obturación tridimensional del sistema de conductos así como nuevos materiales biocerámicos más biocompatibles y procedimientos de endodoncia regenerativa. Conjuntamente, estos avances están destinados a mejorar el estado de la técnica y la ciencia del tratamiento de conductos radiculares (Kihen y cols. 2016).

La mayoría de los trabajos de investigación y de protocolos clínicos consideran el hipoclorito sódico el irrigante de elección. Dados los grandes avances en el campo de la endodoncia en general (instrumentación, magnificación, obturación, desinfección, etc) los tratamientos de conductos cada vez se realizan en menos tiempo. Existe la necesidad de implementar coadyuvantes del hipoclorito sódico que disminuyan el tiempo de disolución del tejido orgánico remanente.

Sin embargo, a pesar de todas estas mejoras, el porcentaje de éxito de la endodoncia no ha aumentado significativamente (Friedman y cols. 2003, Farzaneh y cols. 2004a, Farzaneh y cols. 2004b, Wang y cols. 2004, Marquis y cols. 2006, De Chevigny y cols. 2008a, De Chevigny y cols. 2008b, Barone y cols. 2010). Estos

autores señalan que probablemente, el factor más importante relacionado con el pronóstico se debe a la imposibilidad de eliminar todos los microorganismos del interior del sistema de conductos.

El objetivo del tratamiento endodóntico es interrumpir y destruir completamente a las bacterias involucradas en la infección endodóntica. Esta enfermedad persistirá hasta que se elimine la fuente de la irritación. El ecosistema microbiano de un sistema de conductos infectado ha sido directamente vinculado a la inflamación tanto aguda como crónica (Kakehasi y cols. 1965, Stashenko y cols. 1998). Se han utilizado y estudiado numerosos irrigantes, pero el hipoclorito de sodio (0.5 a 5.25%) sigue siendo el más popular. El hipoclorito de sodio, en concentraciones de 0.5 a 5.25%, tiene la capacidad de disolver desechos orgánicos de la pulpa en zonas no alcanzadas por los instrumentos endodónticos (Senia y cols. 1971, Hand y cols. 1978, Harrison y Hand 1981, Baumgartner 1987, Baumgartner y cols. 1992). Otros investigadores han demostrado que el uso combinado de EDTA al 15% e NaOCl al 5.25% es más eficiente como antimicrobiano que el hipoclorito sódico al 5.25% en solitario para irrigar los conductos radiculares infectados (Byström y Sundqvist 1985).

Por otra parte, el medicamento intraconducto de elección actualmente es el hidróxido de calcio. Aunque no se caracteriza como antiséptico, diversos estudios han demostrado que el hidróxido de calcio es un agente antimicrobiano intraconducto eficaz (Byström y Sundqvist 1985, Stuart y cols. 1991, Safavi y Dowden 1985, Estrela y cols. 1998, Siqueira y de Uzeda 1997, Barbosa y cols. 1997) incluso durante varias semanas (Byström y cols. 1985, Sjögren y cols. 1991). A pesar de todos los esfuerzos realizados para buscar el irrigante ideal, la tasa de éxito de los tratamientos de conductos ha permanecido inalterable durante los últimos 40 años (Ng y cols. 2007).

### **III. OBJETIVOS**



### 3 - OBJETIVOS

#### 3.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El estudio de los artículos revisados a lo largo de este trabajo nos ha facultado para tener un conocimiento amplio sobre las distintas soluciones y técnicas de irrigación, de forma que planteamos dos hipótesis: la hipótesis nula y la hipótesis alternativa.

La hipótesis nula supone que la adición de Keratobacter® a la solución irrigante de hipoclorito sódico no aumenta la eficacia de la irrigación, en cuanto a su capacidad disolutiva; sin elevar la temperatura de la solución resultante ni alterar el pH de esta.

Por otra parte, la hipótesis alternativa supone que la adición de Keratobacter® a la solución irrigante de hipoclorito sódico si aumenta la eficacia de la irrigación, en cuanto a su capacidad disolutiva; elevando la temperatura de la solución resultante y alterando el pH de esta.

#### 3.2. OBJETIVOS

Evaluar la capacidad de las soluciones de hipoclorito sódico y Keratobacter® empleadas por sí solas o de manera conjunta a la hora de disolver tejido orgánico.

Valorar el tiempo necesario para poder disolver tejido orgánico cuando empleamos estas soluciones por sí solas o combinadas.

Justificar la relación existente entre la temperatura que alcanzan las soluciones y su disolución sobre el tejido orgánico.

Comprobar cómo afecta la mezcla de hipoclorito sódico y Keratobacter® sobre el pH.





## **IV. MATERIAL Y MÉTODO**



## IV – MATERIAL Y MÉTODO

### 4.1. ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO

Se realizó una revisión bibliográfica a través de varias fuentes primarias en las revistas de mayor impacto en el área de la endodoncia: Journal of Endodontics, International Endodontic Journal, Endodontic Topics, Australian Endodontic Journal. Con el objetivo de acotar la búsqueda utilizamos las siguientes palabras clave: hipoclorito sódico, irrigación, disolución tejido orgánico, mejorar propiedades, ácido glicólico.

### 4.2. TIPO DE ESTUDIO

Se trata de un ensayo clínico aleatorizado donde hemos medido el porcentaje de peso por muestras de tejido de paladar porcino desde el momento basal hasta el minuto 20 estando expuestas a tres soluciones distintas.

### 4.3. SELECCIÓN DE MUESTRAS

Nuestra población de estudio fue de 140 especímenes de tejido de paladar porcino.

#### 4.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

##### 4.4.1. Tejido de paladar porcino

Inclusión: Muestras extraídas con un punch de 5.2 mm de diámetro cuyo peso oscilase entre 33 - 44 miligramos.

Exclusión: No cumplir con algún criterio de inclusión.

#### 4.5. RECURSOS

##### 4.5.1. Recursos humanos

La recogida de muestras fue realizada por tres operadores. Los procedimientos de conservación, pesado y disolución por un único operador. El análisis estadístico de los datos fue realizado por el personal del Servicio de Apoyo de la Investigación de la Universidad Europea de Madrid.

##### 4.5.2. Variables empleadas

Peso (miligramos) y tiempo (minutos), temperatura (grados centígrados), pH (valor numérico).

### 4.5.3. Recogida de datos

Los datos se registraron en una hoja de Microsoft Excell para su posterior análisis e interpretación.

## 4.6. DESARROLLO DEL ESTUDIO

### 4.6.1. Extracción de las muestras de paladar porcino

Las muestras extraídas se obtuvieron de la mucosa palatina de cabezas de cerdo y fueron tomadas dentro de las dos horas siguientes al sacrificio de estos animales criados y sacrificados para la industria alimentaria. Por lo tanto, esta investigación no fue clasificada como un estudio animal y no se tuvo que someter a ningún Comité de Ética Institucional. Las muestras se obtuvieron del paladar porcino (Figura 39) utilizando instrumentos quirúrgicos y un Punch (Omnia Spa, Parma, Italia) de 5.2 mm de diámetro (Figuras 39, 40). El tejido fue almacenado en microtubos (Eppendorf, Madrid, España) y se conservaron congeladas en seco a -20° C hasta su posterior utilización.



Figura 39: Obtención de muestra de espesor total de mucosa palatina porcina mediante bisturí circular de 5.2 mm de diámetro.



Figura 40: Muestras de mucosa palatina porcina recién obtenidas.

#### 4.6.2. Tipo de báscula, especificaciones y calibración

Durante todo el estudio utilizamos una microbalanza (figura 41) de alta precisión Sartorius AG BP 61S (Weender Landstrasse 94-108, 37075 Goettingen–Alemania) con una lectura máxima de 61 gramos y mínima de 0.0001 gr, una desviación estándar de  $\leq \pm 0.001$  y con certificado de aprobación CE 03011 M e ISO-Test D97-09-018.

Antes de pesar cada muestra, siempre se calibraba la precisión de la microbalanza electrónica dos veces ayudado por la Técnico de Laboratorio del Departamento de Investigación mediante dos formas. En la parte superior de la balanza observando que la burbuja de calibración estuviera dentro de un círculo céntrico, con unas pesas de control (Kern y Sohn GmbH Brickyard-72336 Balingen-Alemania). Para ello, nos colocamos un guante especial libre de partículas y con

unas pinzas, diseñadas específicamente para tal uso, seleccionábamos la pesa más pequeña de 0.010 gr. Las muestras se pesaron 3 veces al inicio y otras 3 veces al final del estudio, anotando la media entre ellas. Por cada pesada, se cerraba el habitáculo de cristal de la microbalanza para que no pudieran influir las corrientes de aire en el resultado debido a su alta sensibilidad y precisión.



Figura 41: Microbalanza de alta precisión Sartorius AG BP 61S con habitáculo cerrado de cristal.

#### 4.6.3. Protocolo de pesado

##### 3. 6. 4. 1 Selección del fragmento porcino a irrigar.

En cada tubo Eppendorf de 1 ml de capacidad, se introdujeron 500 microlitros (0.5 ml) de agua destilada con una micropipeta de laboratorio multifuncional (Flex 1000, referencia 4652070, Thermo Scientific Finpipette F2). Por cada eyección de agua destilada en el microtubo, se colocaba una nueva punta en la micropipeta evitando posibles errores de cantidad.

Posteriormente, el Eppendorf con agua destilada se tara\* en la microbalanza (Fig. 41). \*Tara significa que la báscula no contabilice el peso que está encima del plato siendo resultado de 0 (en este caso el complejo formado por el tubo y el agua destilada).

Una vez tarados los microtubos, procedimos a descongelar las muestras extraídas sumergiéndolas durante 30 minutos en agua destilada. Cuando estaban descongeladas, se diseccionaron en fragmentos más pequeños, se lavaron con agua destilada, se secaron con un vendaje (Trafalgar; Brady Australia, Greystanes, Australia) durante 3 segundos y se colocaron en microtubos para pesarlas. El resto de los fragmentos descongelados y no utilizados en ese mismo momento, se mantuvieron hidratados dentro de los microtubos y rodeados por hielo dentro de un vaso de precipitado para su óptima conservación.

A continuación, cada trozo se introduciría en su tubo Eppendorf identificado numéricamente e hidratado con agua destilada. La segunda fase de selección del trozo porcino, consistía en pesarlo hidratado dentro del anterior microtubo (Fig. 42) que había sido tarado. Si el pesaje oscilaba en valores de 33-44 miligramos era válido para el estudio, si no sería tirado al cubo de restos orgánicos. Todas las mediciones de los trozos porcinos se realizaron hidratadas en agua destilada dentro



del Eppendorf, estandarizando de esta manera las muestras del estudio y evitando sesgos en cuanto a la pérdida de peso que conlleva la variación del volumen (hidratación y deshidratación).

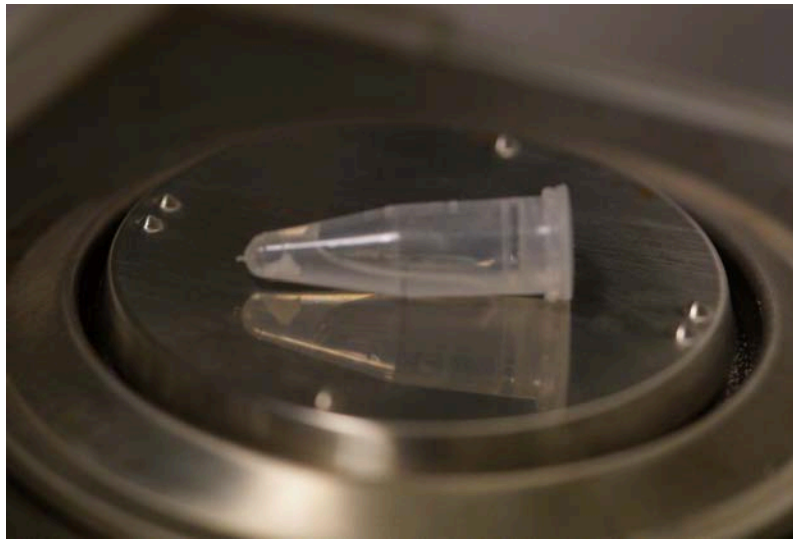


Figura 42: Microtubo con tejido porcino siendo pesado en la microbalanza de precisión.

#### 4.6.4. Protocolo de irrigación

Para la realización de este trabajo in vitro se seleccionaron 140 muestras que se dividieron aleatoriamente en 4 grupos (n = 35). Los grupos fueron los siguientes: Agua Destilada (AD, grupo control), NaOCl (CanalPro NaOCl 6% [Coltene Whaledent, Altstätten, Suiza]), Keratobacter® (KB), una mezcla de CanalPro NaOCl 6% y KB 9:1 vol/vol (NaOCl + KB).

Las muestras de mucosa palatina porcina se asignaron al azar a cada grupo utilizando un programa de algoritmo por ordenador (<http://www.random.org>) y se colocaron individualmente utilizando pinzas microquirúrgicas (Hu-Friedy, Tuttlingen, Alemania) en vasos de precipitados de 100 ml (figura 43) (Hach-Lange, Barcelona, España) que contenían 10 ml de la solución de prueba. También se utilizaron alicates microquirúrgicos para la manipulación posterior de cada ejemplar.



Figura 43: Vaso de precipitado con una muestra de mucosa palatina porcina correspondiente al grupo CanalPro NaOCl 6% y KP® 9:1 vol/vol (NaOCl + KB).

Las muestras se pesaron como se ha descrito anteriormente después de 5, 10, 15 y 20 minutos de incubación a temperatura ambiente (27°C). Se cogía el mismo tubo Eppendorf utilizado para pesar la muestra antes de haber sido sometida a la solución irrigante e identificado con un rotulador indeleble negro; y se volvía a tarar por la pérdida de volumen (agua destilada) que había sufrido anteriormente.

Tras la tara se introduce el remanente porcino post-irrigado y secado (con el vendaje anteriormente comentado) en el microtubo para volver a ser pesado (sin excedernos más de un minuto en el trayecto hacia la báscula) anotando en una hoja de Excell el resultado para ser posteriormente analizado estadísticamente. Una vez terminado el primer pesaje de la muestra, esta se vuelve a introducir en la solución irrigadora correspondiente; el proceso de pesado y anotación de datos se repite a los 10, 15 y 20 minutos.



Figura 44: Vaso de precipitado con una muestra de mucosa palatina porcina correspondiente al grupo NaOCl (CanalPro NaOCl 6%).

#### 4.6.5. Medición de la temperatura y pH de las soluciones irrigadoras

En primer lugar, se llevó a cabo la medición de la temperatura de las soluciones de NaOCl (CanalPro NaOCl 6%) y Keratobacter<sup>®</sup> por separado por medio de un tester de pH y temperatura (Hanna instruments, Woonsocket, Rhode Island, Estados Unidos).



Figura 45: Medición de la temperatura de Keratobacter<sup>®</sup>.



Figura 46: Medición de la temperatura de la solución de NaOCl.

Posteriormente, se realizó la medición del pH de las soluciones de NaOCl (CanalPro NaOCl 6%) y Keratobacter ® individualmente por medio de un medidor de pH (Crison instruments, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España). Antes de medir el pH de ambas soluciones el medidor de pH fue calibrado.



Figura 47: Calibración del medidor de pH.



Figura 48: Medición de pH de Keratobacter®.



Figura 49: Valor numérico del pH de NaOCl (CanalPro NaOCl 6%).



Figura 50: Valor numérico del pH de Keratobacter®.



#### 4.6.6. Análisis estadístico

##### 4.6.6.1. Análisis descriptivo

Las variables cuantitativas que siguen una distribución normal se resumen con su media y desviación estándar.

##### 4.6.6.2. Análisis de la varianza con medidas repetidas de un factor

El peso es una variable cuantitativa continua. Evaluamos la distribución normal de la variable; para ello valoramos la media, la mediana y también evaluamos como es la dispersión de la variable (desviación estándar o desviación típica) en relación con la media.

Evaluación de la evolución en el tiempo de la variable peso dentro de cada uno de los grupos de estudio. Se estudió la evolución del peso (inicial y final) entre los 4 grupos de estudio mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas introduciendo el peso como factor intra-sujeto y el grupo como factor inter- sujeto. Con este análisis también se compararon los cambios intra-grupo de peso en cada grupo de estudio y los cambios inter-grupo del peso inicial y del peso final por separado.

El diseño estadístico y el análisis de los datos se realizaron con la colaboración de un experto del Departamento de Apoyo a la Investigación de la Universidad Europea de Madrid. El procesamiento y análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS 15.0. (SPSS Inc, Chicago, III, EE. UU.).



## **V. RESULTADOS**



## V – RESULTADOS

### 5.1. RESULTADOS GLOBALES

En la realización de este trabajo in vitro seleccionamos 140 muestras que dividimos aleatoriamente en 4 grupos: control (n=35), CanalPro NaOCl 6% (NaOCl) (n=35), Keratobacter® (KB) (n=35) y CanalPro NaOCl 6% + Keratobacter® 9:1 vol/vol (NaOCl +KB) (n=35). El grupo control únicamente se irrigó con agua destilada (n=35). Los otros tres grupos (NaOCl, KB e NaOCl + KB) fueron irrigados con las soluciones indicadas.

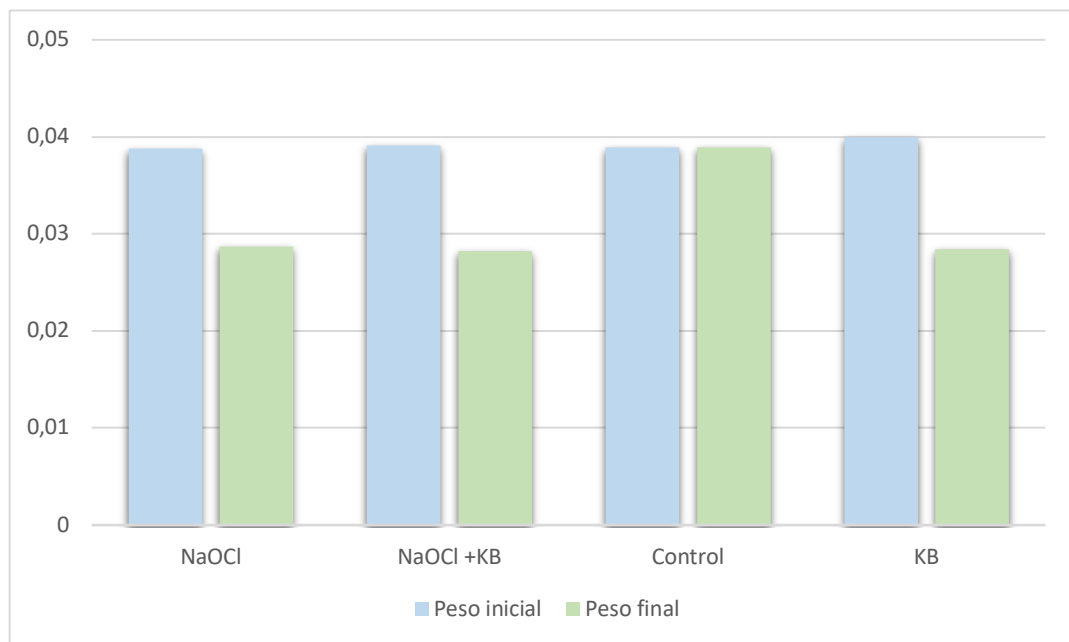
Grupo 1 (NaOCl). Corresponde a la solución CanalPro NaOCl 6%, se emplearon 10 mL de solución por muestra.

Grupo 2 (NaOCl + KB). Corresponde a la solución resultante de mezclar CanalPro NaOCl 6% + Keratobacter® 9:1 vol/vol, se emplearon 10 mL de solución por muestra.

Grupo 3 (Control). Corresponde al agua destilada, se emplearon 10 mL de solución por muestra.

Grupo 4 (KB). Corresponde a la solución Keratobacter®. Se emplearon 10 mL de solución por muestra.

A continuación mostramos el descriptivo, donde observamos la variación de peso inicial a peso final, tras el patrón de irrigación, expresada en gramos.



Gráfica 1: Cambios de peso después de cada grupo de irrigación expresado en gramos.

Observando el gráfico descriptivo podemos observar que en todos los grupos la media de peso es similar al inicio del experimento, pero hay variaciones entre el peso final de las muestras sometidas a distintas soluciones de irrigación.

## 5.2. RESULTADOS POR GRUPO

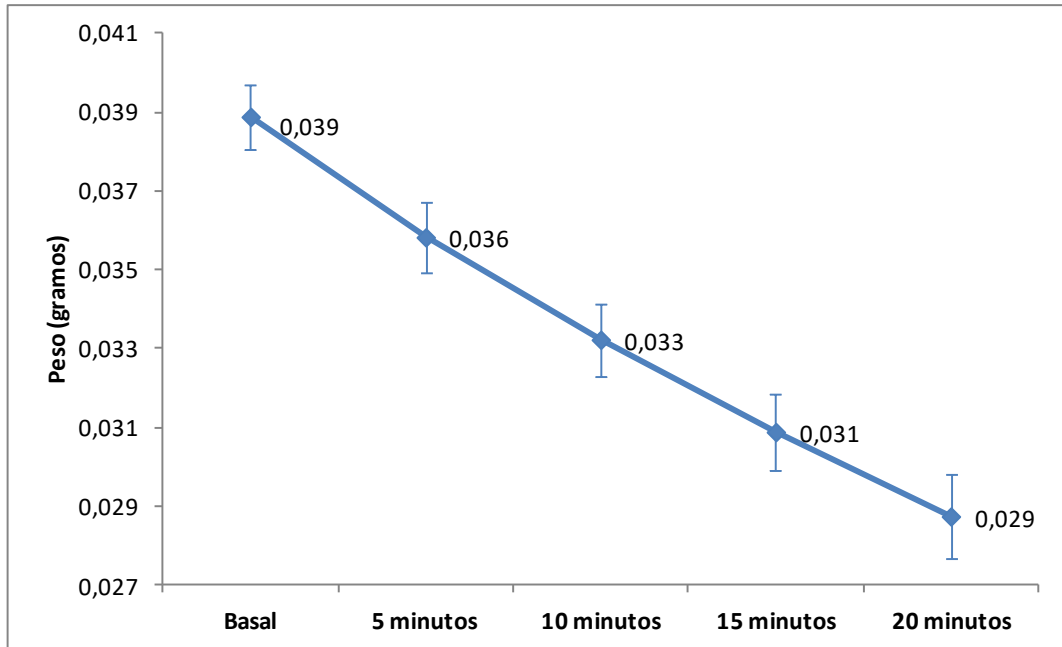
Evaluación de la evolución en el tiempo de la variable peso dentro de cada uno de los grupos de estudio. Para ello vamos a utilizar el análisis de la varianza (ANOVA) para medidas repetidas. Dentro de este análisis se pueden realizar diferentes tipos de comparación. La que consideramos de mayor interés para el objetivo del estudio es comparar el peso en cada uno de los momentos con respecto al momento basal.

### 5.2.1. Grupo 1 (NaOCl)

	Media	Desv. típ.	N
Peso Inicial	,038886	,0024347	35
Peso 5 minutos	,035829	,0025493	35
Peso 10 minutos	,033229	,0026688	35
Peso 15 minutos	,030886	,0028571	35
Peso 20 minutos	,028743	,0030711	35

Tabla 3: Estadísticas descriptivas del grupo 1 (NaOCl).

Desde un punto de vista descriptivo observamos que la media sufre un descenso desde el momento basal hasta el momento de 20 minutos. Estos datos los vamos a expresar de una forma más visual en una gráfica de error. Se trata de una gráfica de líneas con barras de error. Los puntos representan el valor de la media en cada uno de los momentos y las barras (superior e inferior) los intervalos de confianza al 95% (IC 95%) de la media del peso en cada uno de los momentos.



Gráfica 2: Evaluación en el tiempo de las medias del peso en grupo 1 (NaOCl).

En el grupo 1, en el cual se analiza el poder de disolución de tejido orgánico del NaOCl como irrigante único observamos que la media sufre un descenso desde el momento basal hasta el momento 20 minutos. Se trata de un descenso lineal en el peso de las muestras estudiadas. Los resultados nos indican que el NaOCl disuelve tejido orgánico de forma efectiva como irrigante único de conductos.



Coeficientes<sup>a</sup>

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Intervalo de confianza para B al 95%	
	B	Error típ.	Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	,041	,000	,040	,042
Momento	<b>-,003</b>	,000	<b>-,003</b>	<b>-,002</b>

a. Variable dependiente: Peso Inicial

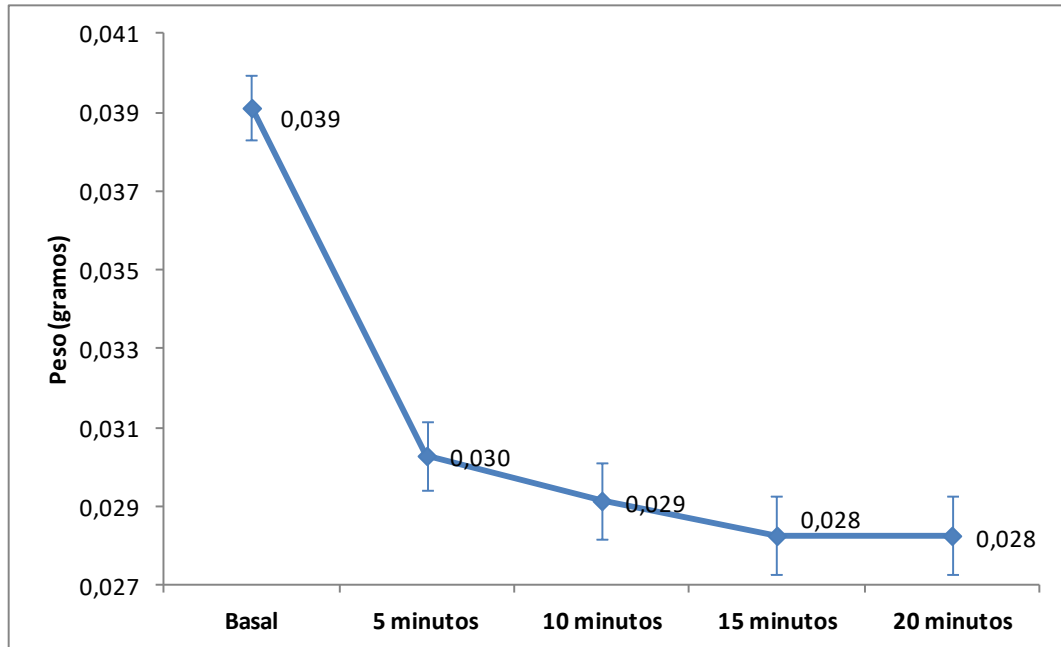
Tabla 4: Coeficientes del grupo 1 (NaOCl).

El coeficiente  $\beta$  del modelo ( $\beta=0.03$ ) nos indica que por cada 5 minutos de aumento de tiempo se produce un descenso medio en el peso de 0.003 gramos. Podemos observar que el NaOCl es un excelente disolvente de materia orgánica como irrigante único de conductos.

## 5.2.2. Grupo 2 (NaOCl + KB)

	Media	Desv. típ.	N
Peso Inicial	,039114	,0023982	35
Peso 5 minutos	,030286	,0024920	35
Peso 10 minutos	,029143	,0027562	35
Peso 15 minutos	,028257	,0029038	35
Peso 20 minutos	,028257	,0029038	35

Tabla 5: Estadísticas descriptivas del grupo 2 (NaOCl + KB).



Gráfica 3: Evolución en el tiempo de las medias del peso en grupo 2 (NaOCl + KB).

En el grupo 2, en el cual se analiza el poder de disolución de tejido orgánico del NaOCl CanalPro 6% junto con, un acondicionador de conductos, el Keratobacter® en proporción 9:1 vol/vol; observamos que la media sufre un descenso desde el momento basal hasta el momento 20 minutos. Pero en este caso no se trata de un descenso lineal, sino que el peso sufre un brusco descenso en los primeros 5 minutos de disolución, debido a la reacción química entre ambas soluciones, y un componente más lineal en el resto del tiempo de disolución.

Coeficientes<sup>a</sup>

Modelo	Coeficiente no estandarizados	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	,038	,000	,037	,039
Momento	<b>-,002</b>	,000	<b>-,003</b>	<b>-,002</b>

a. Variable dependiente: Peso Inicial

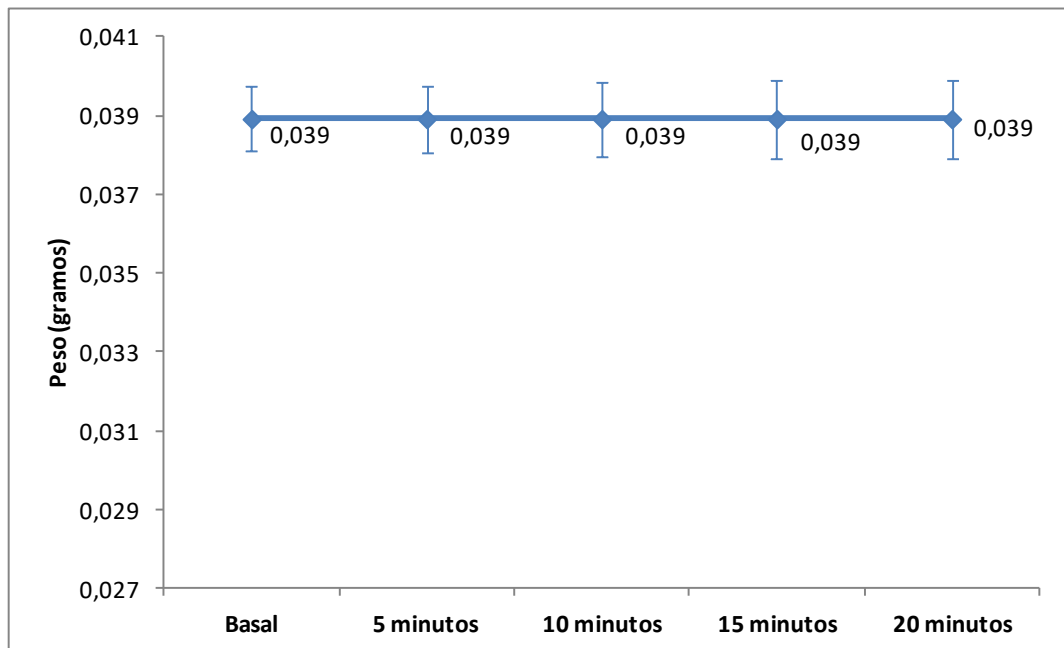
Tabla 6: Coeficientes del grupo 2 (NaOCl + KB).

Para saber realmente como ha sido el descenso medio en el tiempo nos apoyamos en el Coeficiente  $\beta$  del modelo ( $\beta=0.02$ ), afirmando que por cada 5 minutos se produce un descenso medio de 0.002 gramos. Comparando estos resultados con los del grupo en el cual el NaOCl CanalPro 6% actuaba como irrigante único observamos que cuando añadimos Keratobacter® en proporción 9:1 vol/vol, durante los 5 primeros minutos el descenso del peso es más brusco pero el descenso de peso medio es inferior.

## 5.2.3. Grupo 3 (Control)

	Media	Desv. típ.	N
Peso Inicial	,038914	,0027586	35
Peso 5 minutos	,038914	,0027586	35
Peso 10 minutos	,038914	,0027586	35
Peso 15 minutos	,038914	,0027586	35
Peso 20 minutos	,038914	,0027586	35

Tabla 7: Estadísticas descriptivas del grupo 3 (Control).



Gráfica 4: Evolución en el tiempo de las medias del peso en grupo 3 (Control).

En el grupo 3, en el cual se analiza el poder de disolución de tejido orgánico del agua destilada observamos que la media no sufre ninguna modificación desde el momento basal hasta el momento 20 minutos. Como era de esperar no se produce descenso ninguno en el peso, ya que el agua destilada no es un disolvente de tejido orgánico.

Coeficientes<sup>a</sup>

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Intervalo de confianza para B al 95%	
	B	Error típ.	Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	,039	,000	,038	,040
Momento	<b>,000</b>	,000	<b>,000</b>	<b>,000</b>

a. Variable dependiente: Peso Inicial

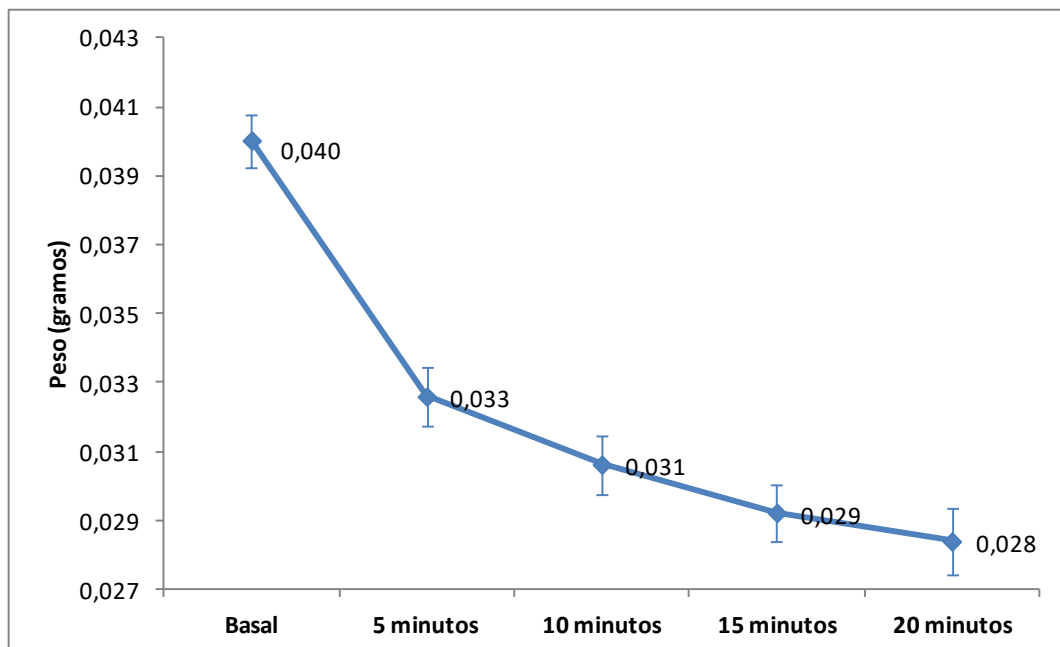
Tabla 8: Coeficientes del grupo 3 (Control).

El coeficiente  $\beta$  del modelo ( $\beta=0$ ) nos indica que la recta no tiene pendiente alguna ya que no se produce descenso del peso con el tiempo.

## 5.2.4. Grupo 4 (KB)

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Peso Inicial	35	,0350	,0440	<b>,040029</b>	,0022424
Peso 5 minutos	35	,0270	,0380	<b>,032600</b>	,0025345
Peso 10 minutos	35	,0250	,0360	<b>,030629</b>	,0024981
Peso 15 minutos	35	,0240	,0340	<b>,029229</b>	,0023525
Peso 20 minutos	35	,0220	,0340	<b>,028400</b>	,0027992

Tabla 9: Estadísticas descriptivas del grupo 4 (KB).



Gráfica 5: Evolución en el tiempo de las medias del peso en el grupo 4 (KB).

En el grupo 4, en el cuál se analiza el poder de disolver tejido orgánico del Keratobacter®, podemos observar claramente el descenso que se produce del peso en el tiempo. El comportamiento de ese descenso es lineal sufriendo un descenso de peso más pronunciado durante los primeros 5 minutos.

Coeficientes<sup>a</sup>

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
	B	Error típ.		Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	,040	,002	,000	,032	,048
Momento	<b>-,003</b>	,001	,036	<b>-,005</b>	<b>,000</b>

a. Variable dependiente: VAR00002

Tabla 10: Coeficientes del grupo 4 (KB).

El Coeficiente  $\beta$  del modelo ( $\beta=0.03$ ), indica que por cada 5 minutos se produce un descenso medio de 0.003 gramos para el grupo 4.

## 5.3. RESULTADOS ENTRE GRUPOS

Ahora vamos a estudiar si los cambios observados individualmente son diferentes entre los grupos.

Grupos	t=0	t=5	t=10	t=15	t=20
AD	38.9(±0.2)	38.7(±0.2) <sup>a</sup>	38.9(±0.2) <sup>a</sup>	38.7(±0.2) <sup>a</sup>	39.1(±0.2) <sup>a</sup>
NaOCl	38.8(±0.2)	35.8(±0.2) <sup>b</sup>	33.2(±0.2) <sup>b</sup>	30.6(±0.2) <sup>b</sup>	28.5(±0.2) <sup>b</sup>
KB	40.0(±0.2)	32.6(±0.2) <sup>c</sup>	30.6(±0.2) <sup>c</sup>	29.2(±0.2) <sup>c</sup>	28.4(±0.2) <sup>b</sup>
NaOCl + KB	39.1(±0.2)	30.3(±0.2) <sup>d</sup>	29.1(±0.2) <sup>d</sup>	28.2(±0.2) <sup>c</sup>	28.2(±0.2) <sup>b</sup>

Tabla 11: El peso medio de las muestras (±Desviación Estándar) expresado en mg después de los diferentes periodos de incubación.

Los grupos identificados con diferentes letras de superíndice indican diferencias estadísticamente significativas (análisis de la prueba de varianza con la prueba de Bonferroni) para los diferentes puntos temporales.

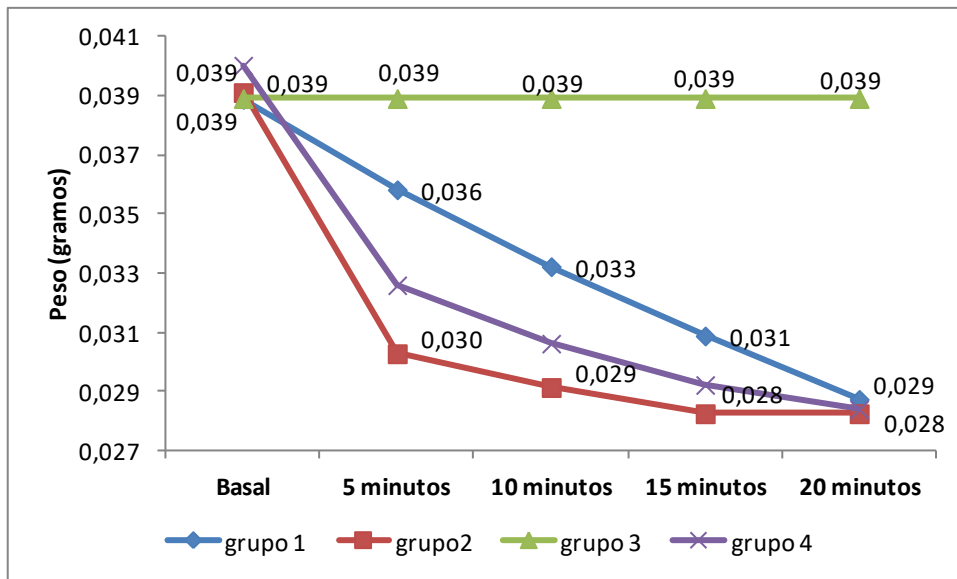


El peso medio de las muestras de referencia no fue significativamente diferente entre los grupos (no se informó de la P). Todos los grupos de prueba se asociaron con una disolución significativa del tejido, mientras que no hubo disolución significativa del tejido en el grupo de control (AD).

En la tabla 11 se presentan las medias y las desviaciones estándar de los pesos de las muestras de la mucosa palatina en los distintos puntos temporales. El mayor porcentaje de reducción de peso se produjo entre los puntos temporales  $t = 0$  minutos y  $t = 5$  minutos en el grupo NaOCl + KB (22.5%) seguido de KB (18.5%) para el mismo período de tiempo. El NaOCl presentó una disolución tisular similar durante los diferentes puntos de tiempo, que oscilaron entre el 7.8% ( $t = 10$  minutos- $t = 15$  minutos) y el 6.8% ( $t = 15$  minutos- $t = 20$  minutos).

Al comparar AD (grupo control) con los grupos experimentales, se encontraron diferencias significativas para cada punto de tiempo y solución ( $P < 0.05$ ). Se encontraron diferencias significativas de peso entre los diferentes grupos experimentales después de 5, 10 y 15 minutos de incubación ( $P < 0.05$ ), con la única excepción de KB versus NaOCl + KB ( $P = 0.138$ ) a  $t = 15$  minutos. A  $t = 20$  minutos, no se encontraron diferencias significativas en el peso entre los grupos experimentales NaOCl versus NaOCl + KB ( $P = .483$ ), NaOCl versus KB ( $P = .620$ ), y NaOCl + KB versus KB ( $P = .836$ ).

Ahora vamos a comparar a través de ANOVA de medidas repetidas la evolución del peso entre los cuatro grupos de estudio.



Gráfica 6: Comparación de la evolución en el tiempo de las medias del peso entre los 4 grupos de estudio.

## 5.4. RESULTADOS EVALUACIÓN CAMBIOS DE TEMPERATURA

Grupos	Inicial	30 seg.	5 min	30 min	60 min
AD	27.3 °C	27.3 °C	27.3 °C	27.3 °C	27.3 °C
NaOCl	27.1 °C	27.1 °C	27.1 °C	27.1 °C	27.1 °C
KB	27.6 °C	27.6 °C	27.6 °C	27.6 °C	27.6 °C
NaOCl + KB	27.4 °C	39.3 °C	42 °C	34.2 °C	29.9 °C

Tabla 12: Medición de la temperatura de las diferentes soluciones empleadas a lo largo del tiempo. La temperatura es expresada en grados centígrados (°C).

Al mezclar la solución de NaOCl (temperatura inicial de 27.1 °C) con el KB (temperatura inicial 27.6 °C) en la proporción 9:1 vol/vol. se produce una reacción exotérmica que da lugar a una gran elevación de la temperatura de la solución resultante (NaOCl + KB). Podemos observar que el punto máximo de temperatura ocurre sobre el momento 5 minutos y posteriormente va descendiendo progresivamente.

## 5.5. RESULTADOS EVALUACIÓN CAMBIOS DE PH

<b>Grupos</b>	<b>pH</b>
<b>AD</b>	7.23
<b>NaOCl</b>	11.77
<b>KB</b>	3.94
<b>NaOCl + KB</b>	3.15
<b>EDTA</b>	7.44

Tabla 13: Medición del pH de las diferentes soluciones empleadas. Medimos también el pH del EDTA por sus propiedades similares al Keratobacter®.

El pH de la solución de NaOCl tuvo un valor numérico de 11.77, el de la solución de Keratobacter® (KB) 3.94 y el de la solución resultante fue de 3.15. También medimos el valor de la solución de EDTA de forma comparativa respecto al Keratobacter® por tener ambas propiedades quelantes.

## **VI. DISCUSIÓN**



## VI – DISCUSIÓN

Es importante que el operador sepa el pronóstico del diente a tratar y que tenga la capacidad de transmitirlo al paciente. Los predictores de pronóstico de éxito y fracaso pueden dividirse en factores preoperatorios, intraoperatorios y postoperatorios. Los factores preoperatorios incluyen la edad, el sexo, la ubicación de los dientes, la presencia o ausencia de lesiones periapicales o perriradiculares, el tamaño de la lesión, el estado pulpar, los síntomas y la condición periodontal. Los factores intraoperatorios incluyen la irrigación, la conformación y obturación, el tamaño de la preparación apical, el cultivo, el número de citas, los materiales y las técnicas utilizadas durante la terapia de conductos, los procedimientos accidentales y las reagudizaciones. El principal factor postoperatorio que puede afectar al resultado del tratamiento de conductos es la restauración de los dientes tratados endodónticamente (Torabinejad y cols. 2005).

El desbridamiento del conducto radicular mediante la instrumentación y la irrigación se considera el factor individual más importante en la prevención y el tratamiento de las enfermedades endodónticas. En la práctica clínica, la instrumentación del conducto o conductos radiculares dentro del diente afectado suele ser el elemento del tratamiento que más tiempo consume y que más exige desde el punto de vista del operador (Haapasalo y cols. 2005).

Técnicamente, el objetivo de la instrumentación y la irrigación es eliminar todo el tejido orgánico necrótico y vital, así como conformar el sistema de conductos de tal forma que permita un fácil desbridamiento, una colocación predecible de los medicamentos/soluciones intraconducto, y una obturación tridimensional permanente de alta calidad (Haapasalo y cols. 2005).

Diferentes estudios (Cvek y cols. 1976, Byström y Sundqvist 1981, Ørstavik y cols. 1991, Dalton y cols. 1998, Siqueira y cols. 1999, Pataky y cols. 2002) a lo largo de los años han demostrado que la preparación mecánica con instrumentos

manuales y la irrigación con solución salina no pueden eliminar de forma previsible las bacterias de los conductos radiculares infectados. Teniendo en cuenta los conocimientos actuales sobre la frecuencia de la invasión bacteriana en los túbulos dentinarios y los conductos laterales desde el conducto radicular principal, la complejidad del sistema de conductos radiculares, las limitaciones físicas de los instrumentos metálicos (acero o NiTi) y la insignificante actividad antibacteriana de la solución salina, sería de hecho bastante sorprendente que estos estudios mostraran un elevado número de conductos radiculares estériles. Además, con respecto a las limitaciones de la toma de muestras del sistema de conductos, es posible que la verdadera frecuencia de los canales con microorganismos viables sea en realidad mayor a la que se ha informado. Por consiguiente, el centro de interés en lo que respecta a la eficacia antibacteriana de la instrumentación y la irrigación ha sido el uso de soluciones de irrigación con una fuerte actividad antibacteriana como complemento necesario de la preparación mecánica.

Presentan efectos antimicrobianos las soluciones antisépticas, antibióticos tópicos, soluciones bacteriostáticas y soluciones bactericidas. El hipoclorito de sodio es la solución antiséptica más utilizada como irrigante de conductos a nivel mundial (Dutner y cols. 2012, Gopikrishna y cols. 2013, Willershausen y cols. 2014). Cuando el NaOCl entra en contacto con las proteínas de los tejidos, en poco tiempo se forma nitrógeno, formaldehído y acetaldehído. De esta forma, los enlaces peptídicos se rompen para disolver las proteínas. Durante este proceso el hidrógeno de los grupos aminos (-NH-) es reemplazado por el cloro (-N.Cl-) formando cloraminas, que juegan un papel importante para la eficacia antimicrobiana. Así, el tejido necrótico y el pus se disuelven y el agente antimicrobiano puede alcanzar y limpiar mejor las zonas infectadas (Basrani y Haapasalo 2012).



Existen otros agentes irrigantes antisépticos, pero ningún otro es capaz de eliminar tejido orgánico como lo hace el hipoclorito sódico. Hay diversas formas de alterar las propiedades del hipoclorito sódico. En este estudio nos vamos a centrar en la temperatura y el pH. El hipoclorito de sodio es una base fuerte ( $\text{pH} > 11$ ). La eficacia antimicrobiana del hipoclorito de sodio, basada en su elevado pH (acción del ión hidroxilo), es similar al mecanismo de acción del hidróxido de calcio. El elevado pH interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática debido a la inhibición enzimática irreversible, a las alteraciones biosintéticas del metabolismo celular y a la degradación de los fosfolípidos observada en la peroxidación lipídica (Estrela y cols. 2012).

Por otra parte, una propiedad indeseable del NaOCl es su citotoxicidad. El hipoclorito de sodio es un agente oxidante inespecífico. Los productos de las reacciones de oxidación son corrosivos. Las soluciones queman la piel y causan daños en los ojos, especialmente cuando se utilizan en formas concentradas. Sin embargo, sólo las soluciones que contienen más del 40% de hipoclorito de sodio en peso se consideran oxidantes peligrosos. Las soluciones de menos del 40% se clasifican como un peligro de oxidación moderado. Los efectos tóxicos del NaOCl en los tejidos vitales incluyen hemólisis, ulceración epitelial y necrosis (Hülsmann y cols. 2007). Por ello hay que ser muy cuidadoso durante la irrigación del sistema de conductos para evitar que la solución de hipoclorito sódico entre en contacto con los tejidos periapicales (Druttman y Stock 1989, Hülsmann y Hahn 2000, Gernhardt y cols. 2004, Witton y cols. 2005).

Las principales vías de extrusión de los irrigantes son el foramen apical y las perforaciones iatrogénicas. El diámetro de los conductos laterales o furcales parece ser lo suficientemente pequeño como para ejercer una resistencia al flujo de los irrigantes y evitar la extrusión de una cantidad relevante de hipoclorito sódico, aunque no existen pruebas de esta suposición (Hülsmann y cols. 2007). Históricamente nos han indicado que los factores más importantes para evitar un accidente por extrusión de hipoclorito sódico a los tejidos periapicales son el

diámetro de la aguja y la profundidad de inserción de la misma (Brown y cols. 1995, Beeson y cols. 1998). Sin embargo, otros autores (Boutsioukis y cols. 2010) en estudios más recientes indican que las agujas más finas presentan menor riesgo de extrusión que las más gruesas siempre y cuando se respete la distancia adecuada a los tejidos periapicales. Esto se debe a que las agujas más finas dejan espacio a su alrededor para el flujo inverso del irrigante hacia coronal, mientras que las agujas más gruesas tienden a quedarse encajadas de tal forma que si la presión sobre el émbolo es excesiva las posibilidades de extrusión son mayores. Otro factor para tener en cuenta es el tipo de aguja, ya que las que presentan extremo abierto tienen mayor probabilidad de inyectar irrigante en los tejidos periapicales que las de extremo cerrado. Los estudios de Boutsioukis y cols. (2010a, 2010b) relacionaron el tamaño de la preparación apical y de la conicidad durante la conformación de los conductos con los flujos de irrigación que generaban agujas de extremo abierto y extremo cerrado. Estos estudios indican que en preparaciones con calibre 25 y conicidad 0.06 (25.06) el irrigante no va más allá de la punta de la aguja ni en dispositivos de extremo abierto ni de extremo cerrado. Para agujas de extremo abierto en preparaciones 30.06 el irrigante puede llegar 2 mm apical a la punta de la aguja; y en preparaciones 35.05 y 35.06 el hipoclorito sódico puede alcanzar hasta 3 mm más apicales que la punta de la aguja. Por su parte, para agujas de extremo cerrado con preparaciones 30.06 el irrigante sólo llega 1 mm más apical que la punta de la aguja.

Además del equipo de irrigación (jeringa y aguja), el flujo de los irrigantes también se ve afectado por sus propiedades físicas, principalmente la densidad y la viscosidad (Mott 1969, Tilton 1999, White 1999). En el caso de los irrigantes endodónticos de uso común, estas propiedades son muy similares a las del agua destilada (Guerisoli y cols. 1998, van der Sluis y cols. 2010) porque la mayoría de los irrigantes son soluciones acuosas dispersas con elevada tensión superficial. Podemos afirmar por tanto que la dispensación del hipoclorito sódico en el interior del sistema de conductos, así como su elevada tensión superficial son los principales responsables de la falta de limpieza en el tercio apical de los conductos radiculares.

Sin embargo, es justamente en esa zona donde la irrigación cobra especial importancia debido a la compleja anatomía que presenta – istmos, conductos laterales, delta apicales- que no puede ser limpiada por la instrumentación mecánica (De Deus 1975, Garberoglio y Becce 1994). Por ello es necesario conseguir que las soluciones irrigantes lleguen a la zona apical de forma eficaz a la par que segura.

### 6.1. DISCUSIÓN DE LA METODOLOGÍA

Se han realizado numerosos estudios sobre la capacidad de disolución del hipoclorito de sodio tanto de forma aislada como combinado con otros irrigantes o acondicionadores de conductos. Se han encontrado gran variedad de resultados entre unos autores y otros. Esto es debido al empleo de diferentes protocolos de irrigación, tipos de muestras, tiempo empleado, técnicas de agitación, volumen, temperatura y pH de las soluciones irrigantes.

La configuración de la metodología utilizada en el presente estudio es similar a la de otros trabajos recientes en los que se evalúa la capacidad de disolución tisular del NaOCl y otras soluciones que contienen cloro (Rossi – Fedele y De Figueiredo 2008, Christensen y cols. 2008, Stojicic y cols. 2010, Clarkson y cols. 2012, Jungbluth y cols. 2012, Rossi-Fedele y cols. 2013) siendo el método más común para un examen rápido de la capacidad de disolución tisular de una solución irrigante en el ámbito de la endodoncia.

Vamos a comenzar a analizar las metodologías empleadas por los distintos autores a lo largo de los años en cuanto al tejido a disolver y el método de evaluación de la disolución de dichas muestras. En la literatura consultada se emplean diferentes tipos de tejido en cuanto a su origen (animal, humano), su localización (músculo, paladar, pulpa, cordón umbilical, hígado) y estado (vital, necrótico o fijado con paraformaldehído).

Hay que tener en cuenta que la pulpa no tiene la misma composición a lo largo de la vida humana, variando tanto el porcentaje celular como fibroso. La pulpa dental se clasifica como un tejido conectivo rico en sustancia fundamental que contiene relativamente menos fibras. La matriz extracelular es uno de los principales componentes del tejido conectivo e incluye proteínas fibrilares y sustancia fundamental. Mientras que el colágeno y la elastina constituyen fibras estructurales, la fibronectina y la laminina son las principales glicoproteínas adhesivas, cuya función principal es mediar las interacciones entre la matriz celular. La sustancia base de la pulpa está compuesta principalmente por macromoléculas de proteoglicanos, que consisten en un núcleo de proteínas y un número variable de cadenas laterales de glicosaminoglicanos. El ácido hialurónico, el dermatán sulfato y el sulfato de condroitina son los glicosaminoglicanos más importantes de la pulpa (Okiji 2002). El colágeno tipo I es la forma de colágeno más abundante designada como fibras de colágeno en la pulpa dental. Mientras que los otros colágenos fibrilares (tipos III, IV, V y XI) se encuentran en la pulpa, el colágeno no fibrilar tipo II no se produce. La composición de los tipos de colágeno en la dentina y la pre dentina difiere considerablemente de la composición de la pulpa. Como la mayoría de las moléculas de colágeno son producidas por los odontoblastos, el colágeno de la dentina podría no ser un producto combinado de los odontoblastos y fibroblastos de la pulpa (Jontell y cols. 1998, Okiji 2002).

En nuestro estudio el tejido elegido ha sido mucosa de paladar porcino. Este tipo de muestra se ha utilizado anteriormente para evaluar la capacidad de disolución tisular de diferentes soluciones de irrigación (Hasselgren y cols. 1988, Zehnder y cols. 2002, Grawehr y cols. 2003, Naenni y cols. 2004). En comparación con el tejido pulpar humano, se ha comprobado que la mucosa palatina porcina requiere más tiempo para su disolución completa, pero no se ha encontrado ninguna diferencia cualitativa en cuanto a la capacidad de disolución (Naenni y cols. 2004). Se puede argumentar que las muestras de tejido en el presente estudio no eran pulpas dentales; pero los trozos de mucosa palatina porcina utilizados en la presente investigación eran bastante densos, con un alto contenido de fibras de tejido conectivo al igual que las muestras del trabajo de Zehnder y cols. (2002).

En nuestro trabajo se obtuvo mucosa palatina porcina de grosor completo utilizando instrumentos quirúrgicos dentales y un punzón redondo, posteriormente las muestras se introdujeron en microtubos y congelaron en seco a  $-20^{\circ}\text{C}$ , siendo esta la misma metodología empleada por otros autores (Conde y cols. 2016, Estévez y cols. 2017, Conde y cols. 2020). Sin embargo, hay estudios que también utilizan mucosa palatina porcina pero no especifican con que tipo de instrumental se obtienen esas muestras. Estos estudios tampoco coinciden en la temperatura de congelación de los especímenes ( $-27^{\circ}\text{C}$  frente a  $-20^{\circ}\text{C}$ ) aunque sí en la técnica de congelación en seco (Zehnder y cols. 2002, Grawehr y cols. 2003, Naenni y cols. 2004).

Clarkson también utiliza tejido porcino en sus diferentes estudios (2006, 2012, 2013), pero en su caso es tejido pulpar obtenido de los incisivos inferiores de cerdos jóvenes. Este autor describió problemas para la estandarización de las muestras pulpares en sus trabajos de 2006 y 2012. En cambio, en el estudio del año 2013 introdujo una nueva metodología de estandarización utilizando un punch circular, pero finalmente volvió a concluir que la pulpa dental presenta problemas que impiden conseguir muestras uniformes para un estudio experimental.

Por otra parte, cuando las muestras son de tejido pulpar las técnicas de obtención son complejas. La sistemática más utilizada se basa en extraer los dientes, cortarlos longitudinalmente con fresa de diamante y dividirlos por la mitad para extraer la pulpa con una cucharilla. Clarkson y cols. (2012) extraen dientes de cerdo sacrificados ese mismo día y los congelan. El día que se va a proceder al experimento, son descongelados durante un breve periodo de tiempo, envueltos en un dique de goma y colocados bajo un tornillo de presión hasta que se fracturan. Una vez roto el diente extraen la pulpa y estandarizan las muestras con un punch circular de acero inoxidable. Slutzky-Goldberg y cols. (2013) utilizaron dientes humanos frescos a los cuáles realizaron un corte horizontal para separar la raíz de la corona. A continuación, se extrajo la pulpa dental, se lavó para eliminar los

excesos de sangre y se secó. Posteriormente, todo el tejido pulpar se unió formando una mezcla aleatoria de tejido que luego fue estandarizada. Para facilitar la lectura y comprensión de los datos en relación con el autor, origen del tejido y su localización vamos a exponer la siguiente tabla.

AUTORES	ORIGEN TEJIDO	LOCALIZACIÓN
	ANIMAL PORCINO	MUCOSA PALADAR
Zehnder y cols. 2002	ANIMAL PORCINO	MUCOSA PALADAR
Grawehr y cols. 2003	ANIMAL PORCINO	MUCOSA PALADAR
Naenni y cols. 2004	ANIMAL PORCINO	MUCOSA PALADAR
Conde y cols. 2016	ANIMAL PORCINO	MUCOSA PALADAR
Estévez y cols. 2017	ANIMAL PORCINO	MUCOSA PALADAR
Conde y cols. 2020	ANIMAL PORCINO	MUCOSA PALADAR
Wright y cols. 2020	ANIMAL PORCINO	MUCOSA PALADAR
	ANIMAL PORCINO	TEJIDO PULPAR
Clarkson y cols. 2006	ANIMAL PORCINO	TEJIDO PULPAR

Clarkson y cols. 2012	ANIMAL PORCINO	TEJIDO PULPAR
Clarkson y cols. 2013	ANIMAL PORCINO	TEJIDO PULPAR
	ANIMAL PORCINO	TEJIDO MUSCULAR
Hasselgren y cols. 1998	ANIMAL PORCINO	TEJIDO MUSCULAR
Christensen y cols. 2008	ANIMAL PORCINO	TEJIDO MUSCULAR
	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Gordon y cols. 1981	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Morgan y cols. 1991	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Beltzy cols. 2003	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Okino y cols. 2004	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Cobankara y cols. 2010	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR

Duarte y cols. 2010	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Rossi-Fedele y cols. 2010	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Jungbluth y cols. 2012	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
de Almeida y cols. 2013	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Rossi-Fedele y cols. 2013	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Couto de Oliveira y cols. 2013	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
de Almeida y cols. 2015	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Guneser y cols. 2015	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Niewieroski y cols. 2015	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Tanomaru – Filho y cols. 2015	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
Paula y cols. 2019	ANIMAL BOVINO	TEJIDO PULPAR
	ANIMAL BOVINO	TEJIDO MUSCULAR
Stojicic y cols. 2010	ANIMAL BOVINO	TEJIDO MUSCULAR
Ertugrul y cols. 2014	ANIMAL BOVINO	TEJIDO MUSCULAR



Haapasalo y cols. 2014	ANIMAL BOVINO	TEJIDO MUSCULAR
Tartari y cols. 2014	ANIMAL BOVINO	TEJIDO MUSCULAR
Ertugrul y cols. 2015	ANIMAL BOVINO	TEJIDO MUSCULAR
Tartari y cols. 2016	ANIMAL BOVINO	TEJIDO MUSCULAR
Ulusoy y cols. 2018	ANIMAL BOVINO	TEJIDO MUSCULAR
	ANIMAL RATA	TEJIDO CONECTIVO
Hand y cols. 1978	ANIMAL RATA	TEJIDO CONECTIVO
Abou-Rass y cols. 1981	ANIMAL RATA	TEJIDO CONECTIVO
	ANIMAL CONEJO	TEJIDO HEPÁTICO
Moorer y Wesselink 1982	ANIMAL CONEJO	TEJIDO HEPÁTICO

	HUMANO	CORDÓN UMBILICAL
Johnson y cols. 1993	HUMANO	CORDÓN UMBILICAL
	HUMANO	TEJIDO PULPAR
Sirtes y cols. 2005	HUMANO	TEJIDO PULPAR
Ballal y cols. 2010	HUMANO	TEJIDO PULPAR
De-Deus y cols. 2013	HUMANO	TEJIDO PULPAR
Slutzky-Goldberg y cols. 2013	HUMANO	TEJIDO PULPAR
Taneja y cols. 2014	HUMANO	TEJIDO PULPAR
Iandolo y cols. 2019	HUMANO	TEJIDO PULPAR
	LABORATORIO	MATRIZ COLÁGENO
Dumitriu y cols. 2015	LABORATORIO	MATRIZ COLÁGENO

Tabla 14: Clasificación de los trabajos estudiados según el origen del tejido y su localización.

Nosotros utilizamos el método de evaluación de disolución tisular más común en la literatura consultada. Este consiste en pesar las muestras de tejido antes y después de la exposición a las soluciones, calcular la pérdida o ganancia de

peso de los fragmentos y expresar el resultado en unidades o porcentaje de peso ganado o perdido (Zehnder y cols. 2002, Grewehr y cols. 2003, Naenni y cols. 2004, Sirtes y cols. 2005, Christensen y cols. 2008, Ballal y cols. 2010, Cobankara y cols. 2010, de Almeida y cols. 2013, de Almeida y cols. 2015, Conde y cols. 2016, Estévez y cols. 2018, Conde y cols. 2020).

Otros autores contabilizan el tiempo de disolución desde el momento en que el fragmento contacta con la solución irrigante hasta el momento en el cual se observa su total desaparición. La velocidad de disolución se calcula como el peso del fragmento dividido entre el tiempo de disolución (Abou-Rass y Oglesby 1981, Okino y cols. 2004, Clarkson y cols. 2006, Rossi-Fedele y cols. 2010, Duarte y cols. 2010, Clarkson y cols. 2012). No obstante, se ha demostrado que es difícil determinar el punto final de la disolución completa del tejido debido al gran número de burbujas que se producen como resultado de la reacción de saponificación (Stojicic y cols. 2010).

También se puede medir el contenido de hidroxiprolina del irrigante, que indica la cantidad de tejido colágeno disuelto (Trepagnier y cols. 1977, Koskinen y cols. 1980) ya que la pulpa consta de 15% de colágeno, el cual contiene aproximadamente el 13% de hidroxiprolina. Otro método que se basa igualmente en medir los cambios que se producen en las soluciones irrigantes es el empleado por Moorer y Wesselink (1982) que midieron la cantidad de cloro disponible en la solución una vez producida la disolución completa.

El tiempo de exposición es otro parámetro importante a la hora de analizar el material y método de los distintos estudios. Los periodos de tiempo a los que son expuestas las diferentes muestras en los procesos de disolución son muy dispares. Algunos autores mantienen las muestras expuestas al tejido el tiempo que sea necesario hasta que se produzca la disolución completa del mismo (Abou-Rass y cols. 1981, Okino y cols. 2004, Rossi-Fedele y cols. 2010, Duarte y cols. 2010, Clarkson y cols. 2012, Rossi-Fedele y cols. 2013, Clarkson y cols. 2013, Niewierowski y cols. 2015, Dumitriu y cols. 2015, Iandolo y cols. 2019). Cuando se

espera a la disolución total del tejido, los resultados se pueden expresar en cuanto a la velocidad de disolución en lugar de la cantidad de tejido disuelto y esto permite compensar una posible variabilidad del peso de las muestras (Okino y cols. 2004).

En la mayoría de los estudios las muestras se pesan en diferentes momentos, anotando, en unidades de peso o masa, su peso en cada uno de estos momentos y pudiendo calcular el peso o porcentaje del mismo ganado o perdido. Estos momentos de pesado oscilan entre los 2, 5 y 10 minutos del estudio de Gordon y cols. (1981) hasta los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos evaluados por Zehnder y cols. en su estudio del año 2002. En nuestro estudio las muestras fueron pesadas a los 5, 10, 15 y 20 minutos con el objetivo de simular los posibles tiempos de irrigación que emplean los odontólogos a nivel clínico durante un tratamiento de conductos una vez terminada la fase de instrumentación mecánica. También hay que tener en cuenta que el tejido mucoso porcino es un tejido denso, con un alto contenido de fibras de tejido conectivo. En consecuencia, una solución de hipoclorito sódico tarda aproximadamente tres veces más en disolver completamente el tejido palatino porcino en comparación con el tejido pulpar (Zehnder y cols. 2002, Naenni y cols. 2004).

A pesar de ello, un número relevante de autores realizan un único momento de pesado de la muestra durante el proceso de disolución. Sirtes y cols. (2005) pesaron el espécimen a los 60 segundos siendo el estudio que menos tiempo de irrigación realizó. Por otra parte, el estudio de Slutzky-Goldberg y cols. (2013) fue el que expuso a las muestras a un mayor tiempo de irrigación (para un único momento de pesado) correspondiendo este a 60 minutos.

Los trabajos de Hasselgren y cols. (1988) así como el de Johnson y cols. (1993) destacan por someter a los especímenes a tiempos de exposición mucho más largos que los del resto de los trabajos estudiados. Hasselgren y cols. (1988) evaluaron los efectos del hidróxido de calcio e hipoclorito sódico en cuanto a la disolución de tejido porcino muscular necrótico, al cuál mantuvieron expuesto hasta 24 horas para poder evaluar los efectos disolutivos del hidróxido de calcio a tan largo tiempo. Por su parte, Johnson y cols. (1993) sometieron las muestras a tiempos de exposición de hasta 10 días con el objetivo de comprobar el tiempo de conservación efectivo de las soluciones de hipoclorito sódico preparadas. Con el objetivo de facilitar la lectura y comprensión de los datos en relación con los autores y el tiempo de exposición planteamos la siguiente tabla.

AUTORES	TIEMPO EXPOSICIÓN
Trepagnier y cols. 1977	1, 5, 15, 60 minutos
Hand y cols. 1978	7 minutos
Gordon y cols. 1981	2, 5, 10 minutos
Abou-Rass y cols. 1981	Disolución completa

Okino y cols. 2004	Disolución completa
Rossi-Fedele y cols. 2010	Disolución completa
Duarte y cols. 2010	Disolución completa
Clarkson y cols. 2012	Disolución completa
Rossi-Fedele y cols. 2013	Disolución completa
Clarkson y cols. 2013	Disolución completa
Niewierowski y cols. 2015	Disolución completa
Dumitriu y cols. 2015	Disolución completa
Iandolo y cols. 2019	Disolución completa
Hasselgren y cols. 1988	30, 60, 90 minutos
	10, 24 horas
Johnson y cols. 1993	1 día – 10 semanas
Zehnder y cols. 2002	15, 30, 60, 90, 120 minutos
Grawehr y cols. 2003	15, 30, 60, 90, 120 minutos
Naenni y cols. 2004	15, 30, 60, 90, 120 minutos
Sirtes y cols. 2005	60 segundos

Cabanes Vila 2006	5, 10, 15, 20 minutos
Christensen y cols. 2008	5, 15, 30 minutos
de Almeida y cols. 2013	5, 15, 30 minutos
de Almeida y cols. 2015	5, 15, 30 minutos
Stojicic y cols. 2010	5 minutos
Haapasalo y cols. 2014	5 minutos
Ertugrul y cols. 2015	5 minutos
Ballal y cols. 2010	30, 60, 90, 120 minutos
Couto de Oliveria y cols. 2013	30, 60, 90, 120 minutos
Cobankara y cols. 2010	20 minutos
De-Deus y cols. 2013	30 minutos
Slutzky-Goldberg y cols. 2013	60 minutos
Ertugrul y cols. 2014	3, 5 minutos
Taneja y cols. 2014	30, 60 minutos
Tartari y cols. 2014	5, 10, 15 minutos
Tartari y cols. 2016	5, 10, 15 minutos
Wright y cols. 2020	5, 10, 15 minutos

Tanomaru-Filho y cols. 2015	10 minutos
Paula y cols. 2019	10 minutos
Conde y cols. 2016	150 segundos
Conde y cols. 2020	150 segundos
Estévez y cols. 2017	120 segundos
Ulusoy y cols. 2018	2, 3 minutos

Tabla 15: Clasificación de los trabajos estudiados según el tiempo de exposición.

El hipoclorito sódico ha sido utilizado históricamente a concentraciones entre el 0.5% y el 6%. La bibliografía consultada utiliza muy diversas concentraciones para valorar la capacidad disolutiva de esta solución irrigadora. Las concentraciones de NaOCl de entre el 0.5% y el 5% pueden ser eficaces para matar las bacterias planctónicas (Siqueira y cols. 2000, Radclife y cols. 2004). Para la eliminación de los restos pulpares se requieren concentraciones mayores al 1% (Baumgartner y Cuenin 1992). Cuanto mayor sea la concentración de cloro disponible, mejores serán las propiedades de disolución tisular (Hand y cols. 1978). En una solución el NaOCl se inactiva rápidamente tras el contacto con la materia orgánica (Macedo y cols. 2010, Jungbluth y cols. 2011), por lo tanto, una cantidad suficiente de NaOCl debe estar disponible en la solución. Estas soluciones son inestables (Hoffman y cols. 1991) y la concentración de cloro disponible se deteriora con el tiempo, exposición a la luz, contacto con el aire (Rutala y cols. 1998, Aparecida y cols. 1996) calor (Piskin y Turkun 1995, Gambarini y cols. 1998), metales, iones metálicos (Johnson y Remeikis 1993) y los materiales orgánicos (Clarkson y Moule 1998). Si bien Velvart y cols. (1987) llegaron a la conclusión de que el almacenamiento en frío no parecía mejorar la vida útil de las soluciones al



2%, otros autores (Piskin y Turkun 1995, Hoffman y cols. 1991) demostraron una vida útil mucho mejor bajo refrigeración; y concluyeron que las soluciones diluidas eran más estables que las soluciones más concentradas.

La cantidad de cloro disponible en una solución puede determinarse mediante la validación con tiosulfato de sodio (Van der Waal y cols. 2014). Esta prueba fue desarrollada para las soluciones de hipoclorito sódico utilizadas en la industria lechera e implicaba la adición de yoduro de potasio a una solución de hipoclorito de sodio, con la subsiguiente adición de ácido acético. El cloro disponible oxida los iones de yoduro para producir yodo, lo que hace que la solución adquiera un color marrón. La solución resultante se valida en ese momento frente a una solución estándar de tiosulfato de sodio (0,1 mol/litro) hasta que el color desaparece. La concentración de cloro disponible viene dada por la siguiente ecuación: el porcentaje de cloro disponible es igual a  $V \times C \times 3.546$  donde V es igual al volumen de tiosulfato de sodio utilizado en mililitros y C es igual a la concentración de la solución estándar de tiosulfato de sodio en moles/litro (Clarkson y cols. 2001).

Una alta concentración de NaOCl tiene un efecto bactericida y solvente mayor, pero también es potencialmente más tóxico para los tejidos periapicales (Mehra y cols. 2000, Gernhardt y cols. 2004, Barnhart y cols. 2005) en caso de extrusión. También se han notificado cambios en las propiedades mecánicas de la dentina, como la microdureza y la rugosidad, tras una exposición prolongada al hipoclorito de sodio en concentraciones del 2.5 y el 5.25% (Ari y cols. 2004). En un estudio (Marending y cols. 2007) los autores informaron de que un tiempo de exposición de 24 minutos en NaOCl al 2.5% causó una caída significativa de la resistencia a la flexión, mientras que el módulo de elasticidad no se vio afectado durante este tiempo. Otros autores encontraron una disminución tanto de la resistencia a la flexión como de la elasticidad después de una inmersión de 2 horas de las barras de dentina en el hipoclorito de sodio (Grigoratos y cols. 2001). La pérdida de iones de calcio parece depender tanto de la concentración del hipoclorito sódico (5% muestra la mayor cantidad de descalcificación) como del tiempo de exposición (Sayin y cols. 2009).

Sin embargo, una de las deficiencias en los modelos utilizados en muchos de los estudios analizados es que no se tiene en cuenta el efecto que los irrigantes producen sobre la dentina. La dentina radicular analizada suele carecer de la capa de cemento, lo que permite una rápida penetración de las soluciones a través de todo el grosor de esta. En realidad, en el conducto radicular la penetración del hipoclorito sódico en la dentina circundante de la raíz es mucho más limitada. En algunos estudios se ha utilizado dentina en polvo que ha sido expuesta a las soluciones de irrigación. El proceso de pulverización puede eliminar parte de la protección de hidroxiapatita alrededor de las fibras de colágeno, permitiendo posiblemente que se produzcan efectos más dramáticos. Por lo tanto, se necesitan nuevos modelos en los que la integridad estructural de la dentina de la raíz se conserve antes de la exposición para asegurar una posición realista de los efectos de las soluciones de irrigación endodónticas sobre la dentina (Shen 2015).

Se han realizado múltiples estudios a lo largo de los años sobre la capacidad disolutiva del hipoclorito sódico teniendo en cuenta su concentración. Algunos estudios han utilizado únicamente NaOCl al 0.5 % (Hasselgren y cols. 1988, Grawehr y cols. 2003, Rossi- Fedele y cols. 2010, Rossi-Fedele y cols. 2013). Una de las causas por las cuáles se utilizan bajas concentraciones son los efectos citotóxicos sobre los tejidos vitales que presenta el hipoclorito sódico, pudiendo provocar reacciones inflamatorias graves si llega al periápice. Los efectos tóxicos y cáusticos son mayores para concentraciones del 5.25% que concentraciones del 0.5% y 1% (Pashley y cols. 1985). Se puede argumentar en contra de la elección de estas bajas concentraciones el hecho de que reducen la capacidad disolutiva del NaOCl (Hand y cols. 1978) pero las capacidades como solvente de esta solución irrigante se pueden mejorar aumentando su temperatura (Abou-Rass y Oglesby 1981, Cunningham y Balekjian 1980). Se ha sugerido que las soluciones de NaOCl al 0.5% son ineficaces como disolventes de tejido necrótico tras un contacto de 7 minutos (Hand y cols. 1978). Sin embargo, Rossi-Fedele y cols. (2013) mostraron que cuando NaOCl al 0.5% fue evaluado más allá de 7 minutos su capacidad de disolución era eficiente ya que los fragmentos de pulpa estaban disueltos.

Por su parte, un importante número de autores realizan estudios de disolución con NaOCl utilizándolo solamente al 2.5% (Ballal y cols. 2010, Slutzky-Goldberg y cols. 2013, Niewierowsky y cols. 2015, Tanomaru-Filho y cols. 2015, Conde y cols. 2016, Ulusoy y cols. 2018). Un aumento de la concentración de hipoclorito sódico puede facilitar la disolución del tejido pulpar (Stojicic y cols. 2010), pero al mismo tiempo aumenta el efecto citotóxico (Mohanmadi 2018). Este hecho motivó el estudio de Niewierowsky y cols. (2015), que tenía por objetivo comparar la capacidad de diferentes soluciones asociadas o no a la agitación ultrasónica para disolver el tejido pulpar; y por lo tanto, realizar un intento de encontrar una alternativa a la alta concentración de NaOCl con la finalidad de reducir los riesgos en la práctica clínica. Este trabajo advierte que la asociación de NaOCl al 2.5% con la agitación ultrasónica es una alternativa clínica para mejorar el desbridamiento del sistema de conductos radiculares, reduciendo al mínimo los efectos secundarios conocidos del NaOCl altamente concentrado, como la toxicidad tisular y la posible pérdida de la resistencia mecánica de la dentina.

Nosotros hemos utilizado hipoclorito sódico al 6% de forma similar a otros autores que lo utilizaron al 5.25% (Cobankara y cols. 2010, Couto de Oliveira y cols. 2013, De-Deus y cols. 2013, Guneser y cols. 2015, Ertugrul y cols. 2015). La desventaja de usar una concentración tan alta de NaOCl como irrigante endodóntico es su extrema citotoxicidad. Si se extravasa a los tejidos periapicales durante la terapia puede causar un dolor insoportable, hinchazón inmediata y hemorragias profusas (Sabala y Powell 1989, Becking 1991). Afortunadamente estas complicaciones son raras. No obstante, el riesgo de accidente por hipoclorito sódico podría reducirse al mínimo si se aplicaran las medidas preventivas al realizar la terapia endodóntica (Al-Zahrani y Al-Zahrani 2016). Es muy importante que el clínico investigue a fondo la presencia de cualquier factor de riesgo predisponente que pueda conducir al desarrollo de un accidente de NaOCl, como perforaciones, reabsorción, ápices inmaduros o cualquier otra condición (Ehrich y cols. 1993). La aguja no debe encajarse en la luz del conducto, sino mantenerse suelta mientras se irriga. Además, debe colocarse a una distancia mínima de 2 mm del extremo apical. El irrigante tiene que ser introducido con baja presión para evitar forzarlo más

allá del ápice (Hülsmann y Hahn 2000). Por otra parte, se ha demostrado que el uso de un procedimiento de irrigación con presión negativa, como el sistema EndoVac® (KaVo Kerr, Brea, California, Estados Unidos) a longitud de trabajo minimiza el riesgo de extrusión del irrigante a los tejidos periapicales (Mitchell y cols. 2011).

Además, hay que tener en cuenta que a mayor concentración mayor será la capacidad de disolver tejido orgánico (Hand y cols 1978) así como la capacidad bactericida (Spangberg y cols. 1973). Estévez y cols. (2017) utilizaron únicamente hipoclorito sódico al 6% al igual que hicimos nosotros. Pero a diferencia de nuestro estudio, ellos utilizaron una solución de hipoclorito sódico llamada Chlor-XTRA® (Vista Dental Products, Racine, WI). Esta solución presenta agentes humectantes y modificadores de superficie para reducir su tensión superficial (Guastalli y cols. 2015) con el supuesto objetivo de mejorar su eficacia clínica. Estévez y cols. quisieron evaluar el efecto de la activación ultrasónica pasiva sobre la capacidad de disolución tisular del hipoclorito sódico con y sin surfactantes, utilizando EDTA como solución intermedia. El estudio concluyó que la adición de un surfactante al NaOCl y la activación ultrasónica pasiva, solos o en combinación, aumentaron la disolución de mucosa palatina porcina. A continuación, exponemos una tabla con los datos correspondientes a los diferentes autores y las concentraciones empleadas en los estudios sobre disolución tisular.

AUTORES	CONCENTRACIÓN
Trepagnier y cols. 1977	0.5, 2.5, 5%
Hand y cols. 1978	0.5, 1, 2.5, 5.25%
Paula y cols. 2019	0.5, 1, 2.5, 5.25%
Abou-Rass y cols. 1981	2.6, 5.25%
Christensen y cols. 2008	2.6, 5.25%.
Gordon y cols. 1981	0, 1, 3, 5%
Johnson y cols. 1993	1, 2.6, 5.25%
Sirtes y cols. 2005	1, 2.6, 5.25%
Hasselgren y cols. 1988	0.5%
Grawehr y cols. 2003	0.5%
Rossi-Fedele y cols. 2010	0.5%
Rossi-Fedele y cols. 2013	0.5%
Zehnder y cols. 2002	0.5, 2.5%
Naenni y cols. 2004	1%
Clarkson y cols. 2013	1%
Okino y cols. 2004	0.5, 1, 2.5%

Cabanes Vila 2006	5%
Stojicic y cols. 2010	1, 2, 4, 5.8%
Ballal y cols. 2010	2.5%
Slutzky-Goldberg y cols. 2013	2.5%
Niewierowski y cols. 2015	2.5%
Tanomaru-Filho y cols. 2015	2.5%
Conde y cols. 2016	2.5%
Ulusoy y cols. 2018	2.5%
Cobankara y cols. 2010	5.25%
Couto de Oliveria y cols. 2013	5.25%
De-Deus y cols. 2013	5.25%
Guneser y cols. 2015	5.25%
Ertugrul y cols. 2015	5.25%
Duarte y cols. 2010	1, 2.5%
Clarkson y cols. 2012	1, 4%
de Almeida y cols. 2013	0.25, 0.5, 1, 2.5%
de Almeida y cols. 2015	0.25, 0.5, 1, 2.5%

Ertugrul y cols. 2014	1.25, 2.5, 5%
Haapasalo y cols. 2014	0.5, 3, 6%
Taneja y cols. 2014	2.5, 5.25%
Dumitriu y cols. 2015	1, 2, 3, 4, 5%
Tartari y cols. 2014	2.5, 5%
Wright y cols. 2020	2.5, 5%
Tartari y cols. 2016	1, 2.5, 5%
Estévez y cols. 2017	6%
Iandolo y cols. 2019	5, 6%
Conde y cols. 2020	3%

Tabla 16: Clasificación de los trabajos estudiados según la concentración de las soluciones.

Un enfoque alternativo para mejorar la eficacia del hipoclorito de sodio en el sistema de conductos radiculares podría consistir en aumentar la temperatura de las soluciones que tengan baja concentración. Esto parece mejorar su capacidad de disolución inmediata de los tejidos (Cunningham y Balekjian 1980, Abou-Rass y cols. 1981). Además, las soluciones de hipoclorito sódico calentadas eliminan los restos orgánicos de las virutas de dentina con mayor eficacia que sus homólogos no calentados (Kamburis y cols. 2003).

Las propiedades antimicrobianas de las soluciones de NaOCl calentadas también se han discutido en la literatura. Ya en 1936 se demostró el efecto de incrementar la temperatura de la solución de NaOCl en cuanto a la supervivencia de *Mycobacterium tuberculosis* (Costigan 1936). Con los taxones probados hasta ahora, las tasas bactericidas de las soluciones de hipoclorito de sodio se duplican con creces por cada aumento de 5°C de temperatura en el rango de 5-60°C (Zehnder 2006). Esto se corroboró en el estudio de Sirtes y cols. (2005), en el cual se utilizaron células de *E. faecalis* planctónicas en estado estable y, concluyeron los autores, que aumentar en 25°C la temperatura de la solución de hipoclorito sódico multiplicaba por 100 la eficacia bactericida de la misma. También se comprobó en dicho estudio que la capacidad del hipoclorito sódico al 1% precalentado a 45°C para disolver pulpa dental humana era igual a la de otra solución de hipoclorito sódico en concentración 5.25% a 20° C.

Por otra parte, la toxicidad sistémica de las soluciones de NaOCl precalentadas, una vez que han alcanzado la temperatura corporal, debe ser inferior a la de sus homólogos no calentados más concentrados y de eficacia similar en el conducto radicular (Cunningham y Balekjian 1980). Sin embargo, se dispone de pocos datos sobre las características de las soluciones de hipoclorito sódico calentado que sean pertinentes para la práctica endodóntica. En diversos estudios se ha podido conocer la estabilidad química, acción de disolución y eficacia antimicrobiana del hipoclorito sódico precalentado, pero los resultados parecen ser algo contradictorios (Sirtes y cols. 2005).



Nosotros realizamos la incubación de las muestras a temperatura ambiente ( $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) al igual que otros muchos autores (Hand y cols. 1978, Gordon y cols. 1981, Clarkson y cols. 2012, Rossi-Fedele y cols. 2013, Couto de Oliveria y cols. 2013, Ertugrul y cols. 2014, Tartari y cols. 2016, Iandolo y cols. 2019). Sin embargo, en el grupo de estudio NaOCl +KB, a los 5 minutos de ser mezclados la solución llegó a alcanzar los  $42^{\circ}\text{C}$ . Los resultados en cuanto a porcentaje de tejido orgánico disuelto en el momento 5 minutos para este grupo fueron estadísticamente significativos respecto al resto de grupos. Por lo tanto, coincidimos con el estudio de Sirtes y cols. (2005) en cuanto a que elevar la temperatura del hipoclorito sódico unos cuantos grados por encima de la temperatura corporal da lugar a una mayor capacidad disolutiva de la solución. Para facilitar la lectura y comprensión de los datos en relación con los autores y la temperatura de las soluciones exponemos la siguiente tabla.

AUTORES	TEMPERATURA SOLUCIÓN
Hand y cols. 1978	Ambiental
Gordon y cols. 1981	Ambiental
Clarkson y cols. 2012	Ambiental
Rossi-Fedele y cols. 2013	Ambiental
Couto de Oliveira y cols. 2013	Ambiental
Ertugrul y cols. 2014	Ambiental

Tartari y cols. 2016	Ambiental
Iandolo y cols. 2019	Ambiental
Abou-Rass y cols. 1981	22.4, 60°C
Zehnder y cols. 2002	32°C
Grawehr y cols. 2003	32°C
Naenni y cols. 2004	32°C
de Almeida y cols. 2013	32°C
de Almeida y cols. 2015	32°C
Wright y cols. 2020	32°C
Sirtes y cols. 2005	20, 45, 60°C
Christensen y cols. 2008	25°C
Duarte y cols. 2010	22°C
Stojicic y cols. 2010	37, 45°C
Slutzky-Goldberg y cols. 2013	37°C
Haapasalo y cols. 2014	21, 40°C

Dumitriu y cols. 2015	21.9 - 34.1°C
Ertugrul y cols. 2015	25, 45°C
Guneser y cols. 2015	21°C
Niewierowski y cols. 2015	23 ± 2°C
Tanomaru-Filho y cols. 2015	25 ± 1°C
Tartari y cols. 2014	25, 32°C
Conde y cols. 2016	36 ± 2°C
Estévez y cols. 2017	36 ± 2°C
Conde y cols. 2020	36 ± 2°C

Tabla 17: Clasificación de los trabajos estudiados según la temperatura de las soluciones.

A lo largo de la historia de la endodoncia, se han hecho continuamente esfuerzos por desarrollar sistemas de irrigación y agitación más eficaces para la irrigación de los conductos radiculares. Estos sistemas pueden dividirse en dos grandes categorías, las técnicas de agitación manual y los dispositivos de agitación asistida por máquinas (Gu y cols. 2009). Los irrigantes deben ponerse en contacto directo con toda la superficie de la pared del conducto para que su acción sea eficaz (Zehnder y cols. 2006, Grande y cols. 2006, Al-Hadlaq y cols. 2006), en particular en la porción apical de conductos estrechos. Para sacar el máximo partido de sus propiedades, el NaOCl debe utilizarse en grandes cantidades (The 1979), estar en contacto con los tejidos (Trepagnier y cols. 1977), agitarse mecánicamente (Moorer y Wesselink 1982) y producirse un intercambio de la solución dentro del sistema

de conductos (Baumgartner y Cuenin 1992). Además, el NaOCl debe penetrar en toda la extensión del espacio del sistema de conductos, ya que las bacterias que intervienen en el desarrollo y aparición de la periodontitis apical se localizan principalmente en los últimos 2 mm apicales (Molven y cols. 1991, Nair 2004).

La irrigación convencional con jeringas ha sido defendida como un método eficaz de administración de irrigantes antes de la llegada de la activación ultrasónica pasiva. Una de las ventajas de la irrigación con jeringas es que permite un control comparativamente fácil de la profundidad de la penetración de la aguja dentro del conducto y del volumen de irrigante que se inyecta a través de este (Van der Sluis y cols. 2006). No obstante, la acción mecánica de lavado creada por la irrigación manual convencional mediante presión positiva es relativamente débil. Después de la irrigación convencional es probable que las extensiones e irregularidades inaccesibles del sistema de conductos sigan albergando desechos y bacterias, lo que dificulta el desbridamiento completo del mismo (Wu y Wesselink 2001, Nair y cols. 2005, Wu y cols. 2006).

Clarkson y cols. en sus trabajos de los años 2006 y 2012 realizan agitación manual de las soluciones irrigantes. Durante un tratamiento de conductos la irrigación dinámica manual, en inglés manual dynamic activation (MDA), puede realizarse con limas manuales (Druttman y Stock 1989), cepillos (Gu y cols. 2009), o una punta de gutapercha cónica bien ajustada. Hay que tener en cuenta que la MDA se comienza a realizar en fases iniciales del tratamiento de conductos durante la preparación del canal cuando la primera lima manual de exploración se coloca dentro del mismo. Es la progresión apical del instrumento la que mueve el irrigante más allá de la punta, y una vez que se ha alcanzado la longitud de trabajo, el movimiento recíproco vertical utilizado permite que la solución involucre todo el espacio del sistema de conductos. La frecuencia de reposición del irrigante coronal con la jeringa junto con la conformación progresiva del conducto radicular y el uso repetido de limas de permeabilidad son factores que permiten el suministro de irrigante cada vez más apical (Machtou 2015). La eficacia de la técnica fue confirmada por varios estudios. Huang y cols (2008) utilizaron un modelo de

biopelícula de colágeno teñido, demostrando que la agitación manual de un cono maestro cónico de gutapercha era significativamente más eficaz para eliminar el colágeno teñido de las superficies de los conductos que la irrigación estática. Utilizando el mismo modelo, McGill y cols (2008) comprobaron que el dispositivo hidrodinámico RinsEndo® (Dürr Dental, Stuttgart, Alemania) era significativamente menos eficaz que la técnica MDA, aunque otro estudio que utilizó microscopía electrónica de barrido, en inglés *scanning electron microscopy* (SEM), no pudo encontrar una diferencia entre los dos métodos en cuanto a la eliminación de los desechos de las paredes del conducto radicular (Vivan y cols. 2010).

La irrigación sónica se diferencia de la irrigación ultrasónica en que opera a una frecuencia más baja (1-6 kHz) y produce menores tensiones de cizallamiento (Ahmad y cols. 1987). La energía sónica también genera una amplitud significativamente mayor o un mayor movimiento de ida y vuelta de la punta. Además, los patrones de oscilación de los dispositivos sónicos son diferentes en comparación con los instrumentos impulsados por ultrasonido. Una oscilación mínima de la amplitud podría considerarse un nodo, mientras que una oscilación máxima de la amplitud representa un antinodo. Tienen 1 nodo cerca de la unión de la lima con el mango y 1 antinodo en la punta de la lima. Cuando se limita el movimiento de la lima sónica, la oscilación lateral desaparece. Esta situación da lugar a una oscilación longitudinal pura de la lima. Se ha demostrado que este modo de vibración es particularmente eficaz para el desbridamiento de los conductos radiculares, porque no se ve afectado en gran medida por la carga y presenta grandes amplitudes de desplazamiento (Walmsley y cols. 1989).

Stojicic y cols (2010) informaron sobre el efecto que la agitación sónica del NaOCl tiene en la disolución de los tejidos. Concluyeron que el aumento de la concentración del NaOCl tenía el mayor impacto sobre la capacidad solvente de dicho irrigante, siendo la agitación (sónica) el segundo parámetro que más afectaba a la disolución tisular (más que el aumento de la temperatura de la solución). Sabins y cols. (2003) informaron que la activación sónica del irrigante utilizando el

sistema Micro-Mega 1500 Sonic Air® (Micro-Mega, Besançon, Francia) mejoraba la limpieza de los conductos respecto a la irrigación por presión positiva pura, pero era inferior a la PUI/UAI. Por otra parte, De Gregorio y cols. (2009) observaron que la activación sónica con el sistema EndoActivator® equivalía a la eficacia de las técnicas de PUI/UAI para introducir la solución irrigante en los conductos laterales a 2 y 4.5 mm del ápice de la raíz utilizando EDTA como solución quelante intermedia. En un estudio posterior, De Gregorio y cols. (2010) comunicaron que el EndoActivator® era superior a la irrigación por presión positiva para llevar la solución irrigante al ápice del conducto principal preparado, así como a los conductos laterales. Sin embargo, era inferior al PUI/UAI y al EndoVac® (SybronEndo, Orange, CA).

En la literatura se han descrito dos tipos de irrigación ultrasónica. La primera modalidad es la combinación de instrumentación ultrasónica simultánea e irrigación (UI). El segundo tipo, a menudo denominado irrigación ultrasónica pasiva (PUI), funciona sin instrumentación simultánea. Los estudios sobre los sistemas endosónicos han demostrado que los dientes preparados ultrasónicamente con dispositivos de UI presentan sistemas de conductos significativamente más limpios que los dientes preparados por el limado convencional del conducto radicular solamente (Martin y cols. 1980, Cunningham y Martin 1982a, Cunningham y Martin 1982b, Cunningham y cols. 1982, Martin y Cunningham 1982, Goodman y cols. 1985, Stamos y cols. 1987). No obstante, otros estudios no han logrado demostrar la superioridad de la UI como técnica primaria de limpieza y modelado (Ahmad y cols. 1987, Reynolds y cols. 1987, Pugh y cols. 1989, Walker y del Rio 1989). Estos resultados podrían atribuirse a la limitación del movimiento vibratorio y a la eficacia de la limpieza de una lima ultrasónica en el espacio del conducto radicular no cónico (Ahmad y cols. 1987, Ruddle 2008). Además, es difícil controlar el corte de la dentina durante la UI y, por lo tanto, la forma del conducto radicular preparado. Con frecuencia se produjeron perforaciones en forma de banda, así como preparaciones de conductos de forma muy irregular (Walmsley y cols. 1991, Lumley y cols. 1992). Por lo tanto, la UI no

se percibe en general como una alternativa a la instrumentación manual convencional (Weller y cols. 1980, Abbott y cols. 1991, Van der Sluis y cols. 2005, Giangregio 1985). Por el contrario, la bibliografía sobre endodoncia sostiene que es más ventajoso aplicar los ultrasonidos una vez finalizada la conformación de los conductos (Zehnder 2006).

Diversos autores han utilizado la técnica PUI para sus estudios de disolución tisular (Moorer y Wesselink 1981, Stojicic y cols. 2010, Haapasalo y cols. 2014, Ertugrul y cols. 2015, Niewierowski y cols. 2015, Tanomaru-Filho y cols. 2015, Conde y cols. 2016, Estévez y cols. 2017, Ulusoy y cols. 2018, Conde y cols. 2020). Moorer and Wesselink (1982) demostraron en su estudio que la disolución de tejido dependía de tres factores: frecuencia de agitación, cantidad de materia orgánica en relación con la cantidad de irrigante y la cantidad de área de superficie del tejido. Haapasalo y cols. (2014) colocaron muestras de tejido muscular bovino en tubos de ensayo y las expusieron a 5 minutos de irrigación con hipoclorito sódico a diversas concentraciones mediante diferentes dispositivos de irrigación. Los dispositivos endodónticos incluían el sistema Multisonic Ultracleaning® (Sonendo, Laguna Hill, CA, Estados Unidos), el sistema ultrasónico Piezon Master 700® (EMS, Dallas, TX) con agitación, el sistema de irrigación por presión negativa EndoVac® (SybronEndo, Orange, CA), y una aguja de irrigación convencional de presión positiva de calibre 27-G a un flujo de 10 mL/min. Haapasalo y cols (2014) informaron que el sistema Multisonic Ultracleaning® utilizado con diferentes concentraciones de hipoclorito sódico disolvió el tejido orgánico a un ritmo significativamente más rápido en comparación con los dispositivos de irrigación convencionales.

Por otra parte, Conde y cols. (2016) compararon la capacidad de disolución tisular del hipoclorito de sodio, con un enjuague intermedio de EDTA, con o sin activación. Para ello los conductos radiculares de ochenta y tres incisivos centrales maxilares humanos fueron preparados químicamente y los dientes se separaron. Se creó un surco longitudinal intracanal estandarizado en una de las mitades de la raíz. Se recogieron 83 muestras de mucosa palatina porcina, se adaptaron para que encajaran en los surcos y se pesaron. Las muestras reensambladas se dividieron al

azar en cuatro grupos experimentales (n = 20), basándose en el enjuague final: sin activación; EndoActivator; PUI; puntas Eddy, utilizando hipoclorito de sodio al 2.5%, con un enjuague intermedio de EDTA. Las soluciones se depositaron con una jeringa y una aguja a 2 mm de la longitud de trabajo. El tiempo total de irrigación fue de 150 segundos, incluyendo 60 segundos de activación en los grupos específicos. Los autores concluyeron que la activación de soluciones, incluyendo EDTA como solución intermedia y el NaOCl como solución principal, aumentó la disolución de la mucosa palatina porcina dentro de los surcos artificiales en conductos radiculares de incisivos. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar diferentes dispositivos ultrasónicos y sónicos.

Nosotros no realizamos ninguna técnica de agitación de las soluciones irrigantes en nuestro estudio. Al ser nuestros objetivos comparar los efectos que produce añadir Keratobacter® a la solución de hipoclorito sódico en cuanto a su capacidad disolutiva, temperatura y pH no hemos introducido ninguna variable externa, como podría ser la activación, que pudiese alterar dichas interacciones. Aún así, somos conscientes de que en las investigaciones futuras deberíamos utilizar diseños de estudio más cercanos a la realidad clínica. Con el objetivo de facilitar la lectura y comprensión de los datos en relación con los autores y la técnica de agitación empleada confeccionamos la siguiente tabla.

AUTORES	TÉCNICA AGITACIÓN
Clarkson y cols. 2006	Manual
Clarkson y cols. 2012	Manual



Stojicic y cols. 2010	Ultrasónica, Sónica, Pipeteo
Ertugrul y cols. 2015	Ultrasónica, Sónica, Pipeteo
Rossi-Fedele y cols. 2013	Ozono
Ertugrul y cols. 2014	Eléctrica
Haapasalo y cols. 2014	Ultrasónica, Presión negativa
Guneser y cols. 2015	Sónica, Láser
Niewierowski y cols. 2015	Ultrasónica
Tanomaru-Filho y cols. 2015	Ultrasónica
Conde y cols. 2016	Sónica, Ultrasónica
Estévez y cols. 2017	Sónica, Ultrasónica
Conde y cols. 2020	Sónica, Ultrasónica
Ulusoy y cols. 2018	Ultrasónica,  Instrumentación rotatoria

Tabla 18: Clasificación de los trabajos estudiados según la técnica de agitación empleada.

La eficacia del hipoclorito de sodio depende de su concentración, volumen y tiempo de contacto, pero también de la superficie del tejido expuesto (Hand y cols. 1978). Se considera importante el área de la superficie de las muestras de tejido expuesto a las diferentes soluciones ya que es un factor que afecta a la disolución. La mayoría de los estudios consultados en la bibliografía, emplean una proporción tejido/solución diferente, sin embargo, para evitar los factores de confusión en el análisis de la disolución los especímenes de cada estudio se prepararon con masas y superficies similares (Tartari y cols. 2016). Turkin y Cengiz (1997) utilizaron una proporción de 80 mg de tejido orgánico por cada 10 mL de solución de hipoclorito sódico. Otra serie de autores decidieron aumentar el volumen de la solución respecto al peso de la muestra obteniendo una proporción de 80 mg/30 mL (Zehnder y cols. 2002, Grawehr y cols. 2003, Naenni y cols. 2004). Sin embargo, nosotros utilizamos una proporción de 3.3 - 4.4 mg por cada 10 mL, proporción más cercana a la empleada en los trabajos de Conde y cols. (2016) y Estévez y cols. (2017).

En cuanto a la estandarización de la muestra, un reducido grupo de autores la miden en milímetros en base a su anchura, longitud y grosor (Hasselgren y cols. 1988, Tartari y cols. 2014, Tartari y cols. 2016). Por su parte, Clarkson y cols. en 2006 colocaron las muestras de tejido pulpar porcino en una tabla de cortar de plástico, con la superficie mesial o distal hacia arriba, y prepararon muestras de tejido de 3 x 1.5 mm con un bisturí. Otra forma de estandarizar la muestra, menos precisa si no se realiza un pesado posterior de las mismas, es la recolección de los especímenes por medio de un bisturí circular de 5 mm de diámetro (Duarte y cols. 2010, Couto de Oliveria y cols. 2013).

La mayoría de los autores pesan las muestras en balanzas de alta precisión y las estandarizan en base a su peso expresado en gramos (Christensen y cols. 2008, Ballal y cols. 2010, Paula y cols. 2019) o miligramos (Zehnder y cols. 2002, Grawehr y cols. 2003, Naenni y cols. 2004, Stojicic y cols. 2010, De Almeida y cols. 2013, De Almeida y cols. 2015) Nosotros realizamos la misma metodología en cuanto a la obtención, refrigeración y mantenimiento de las muestras que los estudios de Conde y cols. (2016) y Estévez y cols. (2017) pero obtuvimos muestras de un peso

medio un poco menor (3.3 - 4.4 mg frente a 3 - 6 mg). A continuación, exponemos una tabla con los datos correspondientes al tamaño y/o peso de los especímenes que eligieron los diferentes autores para la realización de los estudios.

AUTORES	TAMAÑO/PESO MUESTRA
Hasselgren y cols. 1988	2 x 1 x 1 mm
Zehnder y cols. 2002	80 ± 5 mg
Grawehr y cols. 2003	80 mg
Naenni y cols. 2004	83 ± 9 mg
Clarkson y cols. 2006	3 x 1.5 mm
Christensen y cols. 2008	0.4 - 1 g
Ballal y cols. 2010	0.026 g
Stojicic y cols. 2010	68 ± 3 mg
Duarte y cols. 2010	5 mm
Couto de Oliveira y cols. 2013	5 mm
de Almeida y cols. 2013	45 ± 5 mg
de Almeida y cols. 2015	45 ± 5 mg

Clarkson y cols. 2013	2.5 mm
Tartari y cols. 2014	2 x 2 x 6 mm
Tartari y cols. 2016	2 x 2 x 6 mm
Haapasalo y cols. 2014	68 ± 2 mg
Taneja y cols. 2014	9 mg
Ertugrul y cols. 2014	34 ± 2 mg
Dumitriu y cols. 2015	23 ± 3 μm / 25 ± 3 μm
Guneser y cols. 2015	45 ± 15 mg
Niewierowski y cols. 2015	0.0061 - 0.0069 mg
Ertugrul y cols. 2015	38 ± 1 mg
Tanomaru-Filho y cols. 2015	25 - 30 mg
Conde y cols. 2016	3 - 6 mg
Estévez y cols. 2017	3 - 6 mg
Conde y cols. 2020	3 - 6 mg
Paula y cols. 2019	0.03 - 0.04 g

Tabla 19: Clasificación de los trabajos estudiados según el tamaño y/o peso de la muestra.

El volumen necesario de hipoclorito sódico que debemos utilizar a lo largo de un tratamiento de conductos es todavía un tema por resolver. Las características esenciales de las soluciones de NaOCl están directamente relacionadas con la cantidad de cloro disponible (Moorer y Wesselink 1982, Retamozo y cols. 2010). Dado que la cantidad de cloro disponible disminuye rápidamente en el sistema de conductos a medida que se consume durante la interacción con los tejidos y los microorganismos (Zehnder 2006, Moorer y Wesselink 1982, Jungbluth y cols. 2011), para lograr una eficacia óptima de la limpieza, se deben entregar volúmenes sustanciales de hipoclorito sódico en los sistemas de conductos radiculares. Esto proporciona una renovación constante del cloro disponible (Moorer y Wesselink 1982, Retamozo y cols. 2010) y, en consecuencia, un desbridamiento eficiente mediante el lavado tanto de los tejidos orgánicos como de los detritus generados por la instrumentación (Zehnder 2006). Además, la complejidad general del sistema de conductos y la limitada dinámica de los fluidos lograda mediante la irrigación con jeringa (Versiani y cols. 2015), dan una justificación adicional para apoyar la idea de mejorar el volumen y el tiempo de contacto del NaOCl con la dentina de la raíz, aumentando las posibilidades de una óptima desinfección de los conductos radiculares. Para lograr estos objetivos y aumentar las posibilidades de una limpieza óptima dentro del conducto radicular, las soluciones de NaOCl dependen del volumen y del tiempo (Zehnder 2006).

También hay que tener en cuenta que tanto el volumen como la concentración del hipoclorito sódico puede alterar las propiedades mecánicas del diente sometido al tratamiento de conductos. Desde el punto de vista clínico, sería sensato utilizar el NaOCl en un volumen y/o tiempo adecuado para tener efectos mínimos sobre las microdureza dentinaria y lograr el efecto de desbridamiento deseado. Además, la alteración de la dentina radicular puede afectar a la adhesión, así como a la capacidad de sellado de los diferentes cementos a las superficies dentinarias tratadas, y puede predisponer a los dientes a la fractura (Souza y cols. 2019).

En base a los datos aportados por la bibliografía a lo largo de los años, los diferentes autores han empleado considerables volúmenes de solución irrigante. Dumitriu y cols. (2015) emplean 250 mL siendo el estudio que mayor volumen de irrigante utiliza. Otros estudios sometieron también a las muestras a copiosos volúmenes de irrigación de 30 mL (Grawehr y cols. 2003, De Deus y cols. 2013), 25 mL (Clarkson y cols. 2006, 2012 y 2013) y 20 mL (Okino y cols. 2014). Nosotros utilizamos 10 mL como la mayoría de los autores consultados (Christensen y cols. 2008, Ertugrul y cols. 2014, Ertugrul y cols. 2015, Tartari y cols. 2016, Paula y cols. 2019) por considerarlo un volumen suficiente y similar al empleado en la irrigación de un tratamiento de conductos. En el lado contrario se situarían los dos estudios que sumergieron las muestras en un volumen de 0.1 mL de solución irrigante (Slutzky-Goldberg y cols. 2013, Iandolo y cols. 2019). Para facilitar la lectura y comprensión de los datos en relación con los autores y el volumen de solución utilizado se expone la siguiente tabla.

AUTORES	VOLUMEN
Grawehr y cols. 2003	30 mL
De-Deus y cols. 2013	30 mL
Okino y cols. 2004	20 mL
Clarkson y cols. 2006	25 mL
Clarkson y cols. 2012	25 mL
Clarkson y cols. 2013	25 mL

Christensen y cols. 2008	10 mL
Ertugrul y cols. 2014	10 mL
Ertugrul y cols. 2015	10 mL
Tartari y cols. 2016	10 mL
Paula y cols. 2019	10 mL
Ballal y cols. 2010	5 mL
Couto de Oliveira y cols. 2013	5 mL
Duarte y cols. 2010	4 mL
Tanomaru-Filho y cols. 2015	4 mL
Slutzky-Goldberg y cols. 2013	0.1 mL
Iandolo y cols. 2019	0.1 mL
Tartari y cols. 2014	15 mL
Dumitriu y cols. 2015	250 mL
Guneser y cols. 2015	1 mL
Niewierowski y cols. 2015	1 mL
Conde y cols. 2016	6 mL
Estévez y cols. 2017	6 mL

Ulusoy y cols. 2018	6 mL
Conde y cols. 2020	6 mL

Tabla 20: Clasificación de los trabajos estudiados según el volumen de solución empleado.

El hipoclorito sódico es una base fuerte con un pH mayor a 11, pero distintos autores han modificado su pH y valorado como afecta a sus capacidades. El uso a nivel mundial del hipoclorito de sodio como principal solución de irrigación se debe fundamentalmente a su eficacia como solvente de materia orgánica, así como su actividad antimicrobiana (Estrela y cols. 2002). Las reacciones químicas entre el NaOCl y el tejido orgánico reciben el nombre de reacción de saponificación, de cloraminación y de neutralización. Durante la reacción de cloraminación, el hipoclorito sódico neutraliza los aminoácidos que forman el agua y la sal. Con la salida de los iones hidroxilo (OCl<sup>-</sup>) se produce una reducción del pH de la solución. El ácido hipocloroso (HOCl) conduce a la degradación de los aminoácidos y a la hidrólisis (Pécora y cols. 1999, Barbin 1999, Santos 1999, Spanó y cols. 2001).

Estrela y cols. (1994) estudiaron el efecto biológico del pH en la actividad enzimática de las bacterias anaeróbicas. El elevado pH del hidróxido de calcio (12.5), influido por la liberación de iones hidroxilo, altera la integridad de la membrana citoplasmática mediante lesiones químicas de los componentes orgánicos y el transporte de nutrientes, o mediante la degradación de fosfolípidos o ácidos grasos insaturados de la membrana citoplasmática (Estrela y cols. 1995).

La eficacia antimicrobiana del hipoclorito de sodio, basada en su elevado pH (acción de los iones hidroxilo), es similar a la del hidróxido de calcio. El elevado pH del NaOCl interfiere en la integridad estructural de la membrana citoplasmática con una inhibición enzimática irreversible, alteraciones biosintéticas en el metabolismo celular y degradación de fosfolípidos observada en la peroxidación



lipídica (Estrela y cols. 2002). Baker (1959) trazó la relación entre HOCl, OCl<sup>-</sup> y pH. A un pH igual a 10, básicamente todo el cloro está en forma OCl<sup>-</sup>, y lo contrario ocurre a un pH de 4.5, donde todo el cloro está en forma de HOCl. Las propiedades desinfectantes disminuyen con un pH más alto, paralelamente a la concentración de ácido hipocloroso disociado. Bloomfield y Miles (1979) confirmaron que las soluciones de hipoclorito a un pH más bajo poseían una mayor actividad antimicrobiana. Andrews y Orton (1904) fueron de los primeros autores en sugerir que el ácido hipocloroso era responsable de la destrucción de microorganismos. El trabajo de Morris (1966) descubrió que el ión OCl<sup>-</sup> posee aproximadamente 1/80 de la potencia germicida del ácido hipocloroso para matar a *Escherichia Coli*. Está por tanto ampliamente avalada en la literatura científica la relación entre las variaciones de pH y la capacidad germicida del hipoclorito sódico.

Sin embargo, pocos autores han estudiado los efectos de variar el pH del hipoclorito sódico sobre sus capacidades disolutivas. De los autores de la tabla 21, Zehnder y cols (2002) fueron los primeros en comparar soluciones de hipoclorito sódico con diferentes valores de pH en cuanto a su capacidad no sólo antibacteriana, sino también disolutiva. Se prepararon cuatro soluciones diferentes de hipoclorito de sodio a partir de una solución pura sin amortiguar al 9%: 2.5% sin amortiguar (pH 12), 0.5% sin amortiguar (pH 12), y 0.5% amortiguada a pH 12 y pH 9 (solución de Dakin). Muestras de tejido palatino porcino, fresco y descompuesto, fueron sumergidas en 30 mL de la solución correspondiente a 32°C (temperatura media intraconducto). Al comienzo del periodo de incubación y después de 15, 30, 60, 90 y 120 minutos de exposición a la solución, las muestras se secaron y pesaron utilizando una balanza de precisión. Los autores informaron que tanto el hipoclorito sódico al 0.5% sin amortiguar como el hipoclorito sódico al 0.5% amortiguado con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% disolvieron el tejido descompuesto mejor que el tejido fresco en todo momento. En contraste, la solución de Dakin fue igualmente efectiva en cuanto a la disolución de tejidos descompuestos y frescos a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos. En cuanto al hipoclorito sódico al 0.5% sin amortiguar, disolvió el tejido orgánico descompuesto de manera mucho más efectiva que la solución de Dakin a los 60, 90 y 120 minutos. El pH de la solución de NaOCl al 0.5%

sin amortiguar descendió de 12 a 10.5 después de 120 minutos de incubación de los tejidos. Mientras tanto, los valores de pH de las soluciones de hipoclorito al 0.5% con amortiguador y al 2.5% permanecieron estables. A los 120 minutos, el porcentaje de cloro libre descendió hasta el 2.3% para la solución que comenzó con un valor de 2.5% y hasta el 0.4% para la que comenzó al 0.5% (Zehnder y cols. 2002).

Por su parte, Christensen y cols. (2008) evaluaron los efectos sobre la capacidad de disolver tejido orgánico del NaOCl a pH 9 y pH 6 respecto a la solución a pH 12 suministrada comercialmente. Para ello, utilizaron muestras de tejido muscular porcino de entre 0.4 - 1 gramos que fueron expuestas a soluciones de hipoclorito sódico de igual concentración, pero distinto pH durante 5, 15 y 30 minutos. Los autores informaron que la concentración, el tiempo y el pH juegan un rol importante en la capacidad solvente del NaOCl. Respecto al pH concluyeron que su capacidad antibacteriana aumenta a medida que el pH disminuye, de forma antagónica a su capacidad disolutiva que disminuye al bajar el pH de la solución.

Las soluciones de NaOCl con un pH más alto disuelven significativamente más tejido orgánico que las soluciones con la misma concentración, pero con un pH más bajo (Jungbluth y cols. 2011). Sin embargo, la acidificación del NaOCl aumenta la actividad antimicrobiana, pero disminuye la capacidad de disolver tejido (Rossi-Fedele y cols. 2011, Del Carpio-Perochena y cols. 2015). Por lo tanto, el pH de la solución determina el equilibrio entre el cloro libre, el ión hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) y el ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ). Este equilibrio influye en el efecto biológico del NaOCl, que puede definirse como la capacidad antimicrobiana y la disolución de los tejidos (Baker 1947).

Nosotros utilizamos hipoclorito sódico con el valor de pH igual al que había sido fabricado originalmente (11.77), el cuál comprobamos mediante aparato medidor de pH antes de realizar nuestro estudio. No utilizamos soluciones de hipoclorito sódico con diferentes valores de pH ya que no era el objetivo de nuestro estudio evaluar como afecta el pH a las capacidades disolutivas y antimicrobianas

del NaOCl. En la siguiente tabla mostramos como diversos autores han modificado o no el valor del pH del NaOCl para la realización de sus estudios, de tal forma que algunos han comparado en el mismo estudio soluciones de NaOCl con distinto pH.

AUTOR	pH
Zehnder y cols. 2002	9, 12
Okino y cols. 2004	9
Couto de Oliveira y cols. 2013	9
Clarkson y cols. 2006	10.9 - 12
Christensen y cols. 2008	6, 9, 12
Cobankara y cols. 2010	12
Guneser y cols. 2015	12
De-Deus y cols. 2013	11
Tartari y cols. 2014	11.8
Dumitriu y cols. 2015	12.9 - 13.9

Tabla 21: Clasificación de los trabajos estudiados según el pH empleado.

Una característica negativa del hipoclorito sódico como irrigante de conductos es su elevada tensión superficial (Basrani y Haapasalo 2012) que le impide penetrar en el interior de los conductos con facilidad (Salzgeber y Brilliant 1977) y alcanzar áreas no instrumentadas como pueden ser deltas apicales, reabsorciones o conductos laterales. Actualmente, es posible disminuir la tensión superficial del hipoclorito sódico agregando un surfactante que mejore la capacidad de penetración de la solución (Giardino y cols. 2006, Lui y cols. 2007).

El hipoclorito de sodio a una concentración del 1% presenta una tensión superficial igual a 75 dinas/cm, una viscosidad igual a 0.986 cP, 65.5 mS de conductividad, 1.04 g/cm<sup>3</sup> de densidad y una capacidad de humectación igual a 1 hora y 27 minutos (Estrela y cols. 2002). Cameron y cols. (1986) ya demostraron que la presencia de un agente tensioactivo aumentaba la capacidad del hipoclorito de sodio para eliminar material orgánico. De manera similar, se podría esperar que el hidróxido de sodio de estas soluciones de hipoclorito de sodio reaccionara con las grasas y los aceites para formar jabón. Esta saponificación tendería a reducir la tensión superficial de las soluciones de hipoclorito de sodio e hidróxido de sodio en contacto con las grasas de los tejidos pulpaes (Estrela y cols. 2002). Otros autores (Clarkson y cols. 2006, Stojicic y cols. 2010) compararon la disolución de tejidos en diversas soluciones de NaOCl con y sin surfactante. Los investigadores informaron de una mayor pérdida de tejido con la solución que contenía el surfactante, utilizando la pérdida de peso del tejido muscular como medida de la capacidad de disolución del NaOCl. Desde el punto de vista metodológico, es preocupante que no hayan podido medir el contenido de cloro activo de las soluciones probadas y no hayan podido controlar los cambios en el peso de la muestra debido a la acción osmótica (Clarkson y cols. 2012).

Con el objetivo de mejorar la metodología de su anterior estudio del año 2006, Clarkson y cols. (2012) tomaron nota del contenido medio de cloro activo de todas las soluciones el cuál se estableció a partir de 3 lecturas de valoración yodométrica. El autor reportó que los tiempos de disolución de la pulpa para la solución de hipoclorito sódico al 1% con tensoactivo fueron casi idénticos a los de las soluciones sin tensoactivo. El tiempo medio de la solución con surfactante fue

de 22 minutos 32 segundos, mientras que el tiempo medio de la solución sin surfactante fue de 23 minutos 8 segundos. En el caso del hipoclorito sódico al 4% con surfactante, este agente tuvo un efecto ligeramente opuesto, ya que la solución al 4% sin surfactante tuvo un tiempo medio de 10 minutos 33 segundos y la solución al 4% con surfactante tuvo un tiempo medio de 11 minutos 52 segundos. Las variaciones en los tiempos de disolución debido a la presencia de surfactante no fueron estadísticamente significativas. Por tanto, este trabajo concluyó que la adición, únicamente, de un surfactante a las soluciones de NaOCl no influye en la tasa de disolución del tejido de la pulpa dental.

Necesitamos por tanto comprobar si la disolución mejora al añadir dos surfactantes distintos a la solución de NaOCl. De Almeida y cols. (2013) quisieron evaluar si había o no una mejora significativa en la disolución del tejido pulpar por medio de Hypoclean® (Ogna Laboratori Farmaceutici, Milan, Italia) en comparación con una solución de NaOCl puro a diferentes concentraciones y después de diferentes tiempos de contacto. Hypoclean® es una solución irrigadora comercial a base de detergente con baja tensión superficial ( $29.13 \text{ mJ/ m}^2$ ), que contiene un 5.25% de hipoclorito de sodio y dos agentes tensioactivos diferentes: cetrimida y polipropilenglicol. Concluyeron que la adición de los surfactantes cetrimida y polipropilenglicol al NaOCl en concentraciones altas y bajas aumentó considerablemente su capacidad de disolver el tejido pulpar bovino.

Finalmente, Estévez y cols. (2017) evaluaron la disolución de la mucosa palatina porcina a partir de ranuras artificiales en conductos preparados utilizando una irrigación final con NaOCl (con o sin surfactante) con una solución intermedia de EDTA (con o sin activación ultrasónica). Consideramos importante mencionar este estudio ya que a diferencia de los anteriores introduce dos factores que pueden ayudar a valorar mejor la difusión del irrigante al utilizar surfactantes. Esos factores son la utilización de un sistema cerrado que consistió en dientes naturales con surcos artificiales como elemento donde sumergir el tejido a disolver y la aplicación de activación sobre las soluciones a evaluar. Estos dos puntos de la metodología los consideramos clave al conseguir que la situación sea lo más

cercana posible a la clínica diaria. Por tanto, los autores informaron que la adición de un surfactante a la activación del NaOCl y/o PUI, al utilizar el EDTA como solución intermediaria y el NaOCl como solución principal, aumentó la disolución de la mucosa palatina dentro de los surcos artificiales en el conducto radicular de incisivos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas al comparar las diferentes soluciones de NaOCl con 30 segundos de agitación mediante la técnica de PUI.

Nosotros utilizamos Keratobacter® en dos de nuestros grupos de estudio (grupo KB y grupo KB + NaOCl). El Keratobacter® contiene ácido glicocólico (29%) para la desmineralización y la lisis de la materia orgánica, así como una mezcla de agentes tensioactivos, incluido el cloruro de benzalconio. Conde y cols. (2020) también utilizaron Keratobacter® en su estudio con el objetivo de evaluar la disolución del tejido palatino porcino de los surcos artificiales creados en incisivos simulando reabsorciones.

En la literatura consultada se emplean diferentes soluciones como grupo de control negativo, sobre todo agua destilada y suero salino, obteniendo diferentes resultados (ganancia o pérdida de peso de las muestras) según los estudios. En el trabajo de Cobankara y cols. (2010) emplearon suero salino isotónico, el cual aumentaba el peso original del tejido (+4.9%); por ello, recomiendan para futuras investigaciones utilizar como grupo de control el agua destilada. Estas conclusiones coinciden con las de Morgan y cols. (1991) que también cuestionan el suero salino ya que en su estudio disolvía el 10.48% del tejido pulpar bovino. Por su parte, Beltz y cols. (2003) informaron que el suero salino disolvía el tejido pulpar bovino necrótico en un 62%. Esta diferencia respecto al estudio de Morgan y cols. puede deberse a que Beltz y cols. emplearon tejido pulverizado.

En nuestro estudio utilizamos como grupo de control negativo agua destilada basándonos en las conclusiones sobre metodología de otros autores (Hand y cols. 1978, Gordon y cols. 1981). En el estudio de Gordon y cols. observaron que el agua destilada tenía poco efecto sobre la disolución de la pulpa vital, menos

del 10% durante 10 minutos a diferencia del 30% de disolución de tejido necrótico.

## 6.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La irrigación es un paso esencial durante la instrumentación de los conductos radiculares (Siqueira y Lopes 2011). Los efectos mecánicos y químicos de la irrigación juegan un papel crucial en la limpieza y desinfección del sistema de conductos. Los efectos mecánicos están relacionados con el flujo de los irrigantes en el conducto radicular, ya sea bajo una presión apical negativa o positiva. Cualquier irrigante líquido como solución salina, hipoclorito sódico o clorhexidina ejercen efectos mecánicos. De hecho, la reducción de las bacterias se logra de forma significativa por los efectos mecánicos de la irrigación salina (Siqueira y cols. 1999, Dalton y cols. 1998, Rodrigues y cols. 2017). Sin embargo, los efectos químicos de los irrigantes que tienen actividad antibacteriana (NaOCl, CHX) mejoran notablemente la eliminación de bacterias de los conductos infectados (Shuping y cols. 2000, Rodrigues y cols. 2017, Byström y Sundqvist 1983, Siqueira y cols. 1997, Siqueira y cols. 2000, Brito y cols. 2009, Rôças y cols. 2016).

Diversas sustancias han sido propuestas como irrigantes principales durante la conformación de los conductos radiculares. El hipoclorito de sodio es la solución irrigante más utilizada resistiendo al paso del tiempo como el irrigante de elección. Se han utilizado concentraciones que oscilan desde el 0.5% al 6%. Además de una fuerte actividad antibacteriana de amplio espectro capaz de matar a la mayoría de las bacterias orales en un corto periodo de tiempo (Vianna y cols. 2004, Ohara y cols. 1993), el NaOCl también posee la capacidad de disolver tejido orgánico lo que puede mejorar la limpieza de los conductos radiculares (Grossman y Meiman 1941, Baumgartner y cols. 1992, Stojicic y cols. 2010).

La clorhexidina ha sido propuesta como alternativa al NaOCl como irrigante principal de conductos, esencialmente por el fuerte olor y alta toxicidad de este

último. Varios estudios clínicos han comparado la eficacia antibacteriana intraconducto de la clorhexidina y el hipoclorito sódico cuando se utilizan como irrigante principal y no han informado de una diferencia estadísticamente significativa entre ellos (Ercan y cols. 2004, Jeansonne y White 1994, Siqueira y cols. 2007, Rôças y Siqueira 2011). Son varias las propiedades que el clínico debe tener en cuenta cuando selecciona una sustancia determinada como solución irrigadora principal. CHX presenta una toxicidad menor que la del NaOCl (Tanomaru - Filho y cols. 2002, Oncag y cols. 2003). Por otra parte, carece de la capacidad de disolver tejido orgánico, siendo esta una de las características más beneficiosas del NaOCl (Baumgartner y Cuenin 1992, Naenni y cols. 2004). Con el objetivo de aprovechar las ventajas de ambas soluciones irrigantes, se puede utilizar el hipoclorito sódico como irrigante principal durante la conformación de conductos y luego finalizar la desinfección química con un enjuague final de CHX (Zamany y cols. 2003, Trope y Debelian 2008). Esta manera de tratar el sistema de conductos con dos soluciones antisépticas distintas ha mostrado resultados positivos en cuanto a los niveles de desinfección del sistema de conductos (Zamany y cols. 2003, Alves y cols. 2011, Paiva y cols. 2013). Es muy importante tener en cuenta el hecho de que si la CHX y el NaOCl entran en contacto entre ellos, se produce una reacción química que da lugar a un precipitado de color naranja y marrón que contiene para-cloroanilina. Para evitar que esto ocurra, debemos utilizar agua destilada o solución salina como irrigante entre el NaOCl y la CHX (Siqueira y cols. 2002, Basrani y cols. 2007).

Diversos estudios se han enfocado a la idea de encontrar un irrigante que posea principalmente estas 4 propiedades: solvente de tejido orgánico, soluble en agua, no presentar toxicidad y tener capacidad antimicrobiana. Como se ha expuesto, una de las características imprescindibles que debería tener un irrigante ideal debería ser disolver la materia orgánica que se encuentra dentro del sistema de conductos. Grossman y Meiman (1941) informaron que el hipoclorito de sodio a una concentración del 5% era capaz de disolver el tejido orgánico en un periodo de tiempo comprendido entre los 20 minutos y las 2 horas. Por su parte, Moorer y Wesselink (2003) mostraron que la disolución tisular dependía básicamente de tres factores: la frecuencia de la agitación, la cantidad de materia orgánica en relación



con el volumen de solución irrigante dentro del sistema de conductos y la superficie de tejido disponible. El estudio de Okino y cols. (2004) evaluó la capacidad solvente de las soluciones de hipoclorito de sodio a concentraciones de 0.5%, 1% y 2.5%, solución acuosa de CHX al 2%, gel de CHX al 2% y agua destilada como grupo control. Los fragmentos de pulpa bovina se pesaron y se pusieron en contacto con 20 mL de cada sustancia probada en una centrifugadora a 150 rpm hasta su total disolución. La velocidad de disolución se calculó dividiendo el peso de la pulpa entre el tiempo de disolución. El agua destilada y ambas soluciones de CHX no disolvieron tejido pulpar en las 6 horas que estuvo expuesto. Las velocidades medias de disolución para las distintas soluciones de hipoclorito de sodio al 0.5%, 1% y 2.5% fueron de 0.31, 0.43 y 0.55 mg/min respectivamente. Por su parte, Clarkson y cols. (2006) calcularon la capacidad solvente de dos soluciones de NaOCl a concentraciones distintas en pulpas de dientes incisivos de cerdos. Concluyeron que concentraciones mayores de hipoclorito sódico daban lugar a una disolución tisular más rápida.

A lo largo de los años se ha ido evaluando la capacidad de disolver tejido orgánico de diversas soluciones irrigantes distintas al hipoclorito sódico. El estudio de Beltz y cols. (2003) comparó la capacidad solvente del MTAD, NaOCl, EDTA y solución salina. Los resultados mostraron que las soluciones de NaOCl al 5.25% y 2.6% eran igual de eficaces (>90%) como solubilizadores de tejido pulpar, sin embargo, el hipoclorito sódico al 5.25% fue más efectivo en cuanto a la capacidad para disolver el componente orgánico de la dentina. En cuanto al MTAD, sus efectos solubilizantes sobre la pulpa fueron similares a los del EDTA al 17% y significativamente inferiores a los del NaOCl a cualquiera de las concentraciones empleadas. Posteriormente, Khademi y cols. (2007) evaluaron la capacidad de disolver tejido pulpar bovino de las siguientes soluciones irrigadoras: MTAD, gluconato de clorhexidina al 2%, solución salina e hipoclorito sódico a una concentración de 2.6% y 5.25%. Para evaluar las capacidades solventes de dichas soluciones, se sumergieron en las mismas durante 10 minutos a 37°C trozos de pulpa bovina estandarizados a un peso de 80 mg. El efecto disolutivo del NaOCl al 5.25% fue significativamente mayor que el del resto de soluciones produciendo una

pérdida media de peso del 85.98%, seguida del NaOCl al 2.6% con una pérdida del 68.6%. La solución que mostró una menor capacidad disolutiva fue el gluconato de clorhexidina al 2% con una media de pérdida de peso de sólo el 9.36%. El citado estudio concluyó que la disolución de materia orgánica esperada por parte del MTAD y la solución salina será similar y siempre menor que la del NaOCl. Por su parte, Naenni y cols. (2004) valoraron la capacidad de disolver tejido necrótico del hipoclorito de sodio al 1%, clorhexidina al 10%, peróxido de hidrógeno al 3% y 30%, ácido paracético al 10%, dicloroisocianurato (NaDCC) al 5% y ácido cítrico al 10%. Las muestras de tejido palatino porcino estandarizadas se incubaron en estas soluciones, y se midió su pérdida de peso a lo largo del tiempo. Ninguna de las soluciones probadas, excepto el NaOCl, evidenció una capacidad sustancial de disolución tisular. El estudio llegó a la conclusión de que este parámetro puede ser fundamental cuando se considere la posibilidad de utilizar irrigantes principales distintos al hipoclorito de sodio. Otro estudio interesante es el de Ballal y cols. (2010) los cuáles evaluaron el efecto disolutivo sobre tejido orgánico del ácido maleico al 7% comparándolo con EDTA al 17% e NaOCl al 2.5%. Para ello utilizaron trozos de pulpa humana estandarizados a 0.026 g que dividieron al azar para ser evaluados en cada una de las distintas soluciones. El tejido pulpar se colocó en vasos de precipitado que contenían las soluciones de prueba y luego se colocó en un vibrador. Las muestras de tejido de cada uno de los cuatro grupos de estudio fueron secadas y pesadas después de 30, 60, 90 y 120 minutos. El NaOCl disolvió significativamente mayor cantidad de tejido pulpar para todos los periodos de tiempo. No hubo una diferencia significativa entre la capacidad de disolución de tejido pulpar del ácido maleico al 7% y el EDTA al 17% en ninguno de los diferentes intervalos de tiempo. El estudio concluyó por tanto que el ácido maleico al 7% y el EDTA al 17% si que mostraron capacidad de disolver tejido orgánico, pero en muy bajas proporciones si lo comparamos con el NaOCl.

En nuestro estudio, evaluamos la capacidad de disolver tejido orgánico de una solución de CanalPro NaOCl 6% (grupo NaOCl), la solución resultante de mezclar CanalPro NaOCl 6% con Keratobacter® en proporción 9:1 vol/vol (grupo NaOCl + KB), una solución de Keratobacter® (grupo KB) y agua destilada (grupo

control). Las muestras de tejido palatino porcino se sumergieron en un vaso de precipitado con 10 mL de cada solución siendo secadas y pesadas a los 5, 10, 15 y 20 minutos. El grupo NaOCl mostró un descenso líneal del peso desde el momento basal hasta el momento 20 minutos, siendo el descenso de peso medio total de 10.1 mg. Tomaremos como momento de referencia importante en cuanto a la disolución tisular el minuto 5, ya que la clorina se consume durante los 2 primeros minutos (Zehnder y cols. 2006) y además se asemeja más a la realidad clínica ya que en este estudio no realizamos un intercambio del irrigante durante todo el procedimiento de irrigación de 20 minutos de duración. Por lo tanto, la media en cuanto al descenso de peso en el momento 5 minutos para el grupo NaOCl fue de 3 mg coincidiendo en este caso con el descenso de peso medio cada 5 minutos que también fue de 3 mg para este grupo lo que indica claramente un descenso líneal continuado en el tiempo.

Por su parte, el grupo NaOCl+KB sufrió un descenso de peso medio total de 10.9 mg desde el minuto 0 al 20. Sin embargo, la distribución de la pérdida de peso no fue líneal en el tiempo ya que sufrió un brusco descenso de 8.9 mg durante los 5 primeros minutos. Posteriormente, se produjo un gran descenso de la capacidad disolutiva de esta solución dando lugar a una pérdida media de peso cada 5 minutos de 2 mg. Este parámetro nos indica que nos encontramos ante una solución con gran capacidad disolvente durante los primeros minutos la cuál pierde casi por completo su capacidad disolutiva a partir del minuto 5, a diferencia del grupo NaOCl en el cuál la solución continuó disolviendo tejido orgánico de forma eficaz hasta el momento 20 minutos.

En cuanto al grupo control, en el cuál la solución irrigante fue el agua destilada, no hubo descenso alguno en el peso medio de las muestras durante los 20 minutos de duración del experimento. Finalmente, el grupo KB, mostró un descenso de peso medio total de 11.6 mg desde el principio del periodo de irrigación hasta el final. En este grupo también nos encontramos con un notable descenso de 7.4 mg durante los 5 primeros minutos. Posteriormente, descendió la capacidad disolutiva de la solución de forma similar a la del grupo NaOCl + KB presentando finalmente una

pérdida media de peso de 3 mg por cada 5 minutos. Para entender como este grupo compuesto únicamente por Keratobacter® presenta una capacidad disolutiva tan importante debemos comprender su mecanismo de acción. A la hora de explicar la capacidad proteolítica del Keratobacter® como irrigante único habría que contemplar un doble mecanismo. Por un lado, el mecanismo químico debido a la capacidad de acción ácida sobre las proteínas en función de la concentración del ácido glicólico, tiempo de aplicación y escasa dependencia del pH del medio. Por otra parte, el mecanismo físico debido a los efectos surfactantes de los tensoactivos incluidos en su fórmula galénica. En consecuencia, con una tensión superficial tan baja (38.51 dinas/cm) (el hipoclorito de sodio al 5% posee una tensión superficial de 77.3 dinas/cm aproximadamente), e involucrando a ambos mecanismos físico-químicos, la velocidad de disolución de tejido orgánico es máxima durante los 5 primeros minutos y luego se mantiene ligeramente por debajo de la del hipoclorito de sodio. Esto se debe a que el NaOCl necesita tiempo para la saponificación de los ácidos grasos presentes en el tejido orgánico y al conseguir esta reacción de saponificación reducir su elevada tensión superficial (Cabanés Vila 2016).

El ácido glicólico (AG) o ácido hidroxiacético pertenece al grupo de los alfa-hidroxiolos al igual que el ácido cítrico. Es un sólido inodoro, incoloro e higroscópico con una alta solubilidad en agua (Thibault y cols. 1998). Diferentes estudios in vivo e in vitro han demostrado que el AG tiene la capacidad de inducir la síntesis de colágeno y la proliferación de fibroblastos (Thibault y cols. 1998, Kim y Won 1998, Bernstein y cols. 2001). El bajo pKa del AG, su bajo peso molecular y su naturaleza orgánica lo convierten en una excelente opción para tratar superficies minerales como estructuras dentales. Recientemente, se propuso su utilización para sustituir al ácido fosfórico como grabador de superficie de esmalte y dentina (Cecchin y cols. 2018). Además, el AG es fácilmente biodegradable (Hua y cols. 2018); por lo tanto, a diferencia del EDTA su eliminación de residuos no es un problema. Estas características indican el potencial del AG para su uso en distintas aplicaciones dentales, como la eliminación del barrillo dentinario en la terapia endodóntica. Sin embargo, hay pocos trabajos en la literatura que estudien el comportamiento del AG como irrigante de conductos. Dal Bello y cols. (2019) evaluaron los efectos del

AG sobre la microdureza dentinaria, la rugosidad, distribución del contenido mineral de la dentina, la eliminación del barrillo dentinario y la citotoxicidad. Para ello, cien dientes humanos fueron divididos aleatoriamente en 6 grupos: agua destilada, ácido cítrico al 10%, EDTA al 17%, AG al 5%, AG al 10% y AG al 17%. La menor microdureza dentinaria y mayor rugosidad fue mostrada por el grupo AG 17%. La capacidad de eliminar barrillo dentinario del AG fue similar a la del EDTA y el ácido cítrico sin diferencias estadísticamente significativas entre las distintas concentraciones de AG. En cuanto a su citotoxicidad, tanto el AG como el ácido cítrico mostraron ser dosis dependientes. Finalmente, el estudio concluyó que el AG mostró su potencial para poder ser utilizado como agente irrigador final en terapia endodóntica. Este estudio, a diferencia del nuestro, no evaluó la capacidad solvente del ácido glicólico ni en solitario ni combinado con surfactantes.

Las dos fuentes principales de hipoclorito de sodio son los suministros farmacéuticos o las lejías domésticas disponibles en el mercado. Un posible problema de las soluciones domésticas disponibles en el mercado es la presencia de otros aditivos como perfumes, agentes espesantes y surfactantes. Es probable que éstos interfieran en el proceso de dilución, lo que da lugar a concentraciones impredecibles de cloro disponible (Frais y cols. 2001). Otro inconveniente radica en la inestabilidad inherente de las soluciones de NaOCl que pueden verse afectadas por la luz, el aire, el pH y los contaminantes orgánicos e inorgánicos (Hoffmann y cols. 1981). La vida útil o la estabilidad de las soluciones de hipoclorito de sodio se ha investigado anteriormente (Fabian y Walker 1982, Pappalardo y cols. 1986, Gerhardt y Williams 1991, Johnson y Remeikis 1993, Piskin y Turkun 1995, Gambarini y cols. 1998). En el trabajo de Johnson y Remeikis (1993) probaron la vida útil de diferentes concentraciones de NaOCl determinando el "tiempo medio de disolución" de las muestras estándar de cordón umbilical humano. Encontraron que el tiempo de disolución de la solución de NaOCl a una concentración de 5.25% se mantuvo relativamente consistente durante 10 semanas. Sin embargo, las soluciones diluidas no conservaron la estabilidad durante más de una semana. Por su parte, Piskin y Turkun (1995) midieron la estabilidad de tres fuentes de hipoclorito sódico disponibles en el mercado a diferentes concentraciones y

temperaturas durante 200 días. La única reducción significativa del cloro disponible fue causada por el almacenamiento de la solución a un 5% de concentración y 24 °C. Por otra parte, Cunningham y Balekjian (1980) mostraron que el calentamiento del NaOCl a 37 °C provocó una reducción del 9.5% y el 4% del cloro disponible para las soluciones al 5% y al 2.5% respectivamente después de 24 h. En nuestro estudio, las soluciones eran frescas, fabricadas específicamente para su uso en endodoncia y se utilizaron el mismo día que se abrieron.

Un enfoque alternativo para mejorar la eficacia del hipoclorito sódico en el sistema de conductos podría consistir en aumentar la temperatura de las soluciones de baja concentración. Esto parece mejorar su capacidad de disolución inmediata de los tejidos orgánicos (Cunningham y Balekjian 1980, Abou-Rass y Oglesby 1981). Al mismo tiempo, la toxicidad sistémica de las soluciones de NaOCl precalentadas, una vez que han alcanzado la temperatura corporal, debería ser inferior a la de sus homólogas no calentadas más concentradas con una eficacia similar en el conducto radicular (Sirtes y cols. 2005). Existen varios dispositivos para precalentar las jeringas de NaOCl; sin embargo, se demostró que tan pronto como el irrigante toca el sistema de conductos alcanza la temperatura corporal (Zehnder y cols. 2005). Por lo tanto, algunos autores recomiendan el calentamiento *in situ* del NaOCl. Esto puede hacerse activando las puntas ultrasónicas o sónicas durante un par de minutos cuando el sistema de conductos está lleno de solución de hipoclorito sódico (Basrani 2015). Sin embargo, se dispone de pocos datos sobre las características de las soluciones de hipoclorito sódico calentado que sean pertinentes para el endodoncista. El estudio de Sirtes y cols. (2005) evaluó la estabilidad química a corto plazo de las soluciones de hipoclorito sódico precalentadas. También estudió otros parámetros, siendo de especial interés su valoración sobre la capacidad para disolver pulpa humana necrótica de soluciones de hipoclorito sódico a diferentes temperaturas. Los autores utilizaron soluciones de hipoclorito sódico a concentraciones del 1%, 2.62% y 5.25% que fueron testadas a 20°C, 45°C y 60°C. Al final del experimento se comprobó que las soluciones acuosas de hipoclorito sódico a diferentes concentraciones mantuvieron el 100% de su cloro disponible a las temperaturas anteriormente citadas durante los

60 minutos de duración del experimento. Cuando compararon los valores porcentuales de tejido disuelto observaron que una solución de NaOCl al 1% a 60°C fue significativamente más eficiente que la solución de igual concentración a 45°C. Mostrándose también significativamente más eficiente en cuanto a disolución tisular el NaOCl al 1% a 45°C que a 20°C.

Posteriormente, Stojicic y cols. (2010) evaluaron y compararon los efectos de la concentración, la temperatura y la agitación en la capacidad de disolución tisular del hipoclorito de sodio. Probaron tres soluciones de hipoclorito de sodio de dos fabricantes diferentes en concentraciones del 1%, 2%, 4% y 5.8% a temperatura ambiente, 37°C y 45°C con y sin agitación mediante energía ultrasónica, sónica y pipeteo. Una de las soluciones llevaba incorporados agentes tensoactivos y la otra solución fue de NaOCl convencional sin ningún agente añadido que modificara su tensión superficial. Las muestras para disolver fueron de tejido muscular bovino que se sumergió en 10 mL de cada solución durante 5 minutos. Los autores observaron que la pérdida de peso del tejido aumentó casi linealmente con la concentración de hipoclorito de sodio. Las temperaturas más altas y la agitación aumentaron considerablemente la eficacia del hipoclorito sódico. Por lo tanto, este estudio concluyó que la optimización de la concentración, la temperatura, el flujo y la tensión superficial puede mejorar la eficacia de disolución tisular del NaOCl incluso 50 veces. Recientemente, Basaiwala y cols. (2018) evaluaron la capacidad de disolver tejido muscular bovino mediante hipoclorito de sodio al 3%, hipoclorito de calcio al 10% y el dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) al 13.8% a diferentes temperaturas. Los resultados de este estudio mostraron que a temperatura ambiente, la solución de NaOCl al 3% presentaba la máxima capacidad solvente frente al resto de soluciones. Sin embargo, a 37°C, la solución de ClO<sub>2</sub> al 13.8% fue más efectiva para disolver tejido orgánico. Finalmente, cuando la temperatura se elevó a 45°C, las tres soluciones de prueba fueron solventes igualmente efectivos. El hipoclorito de calcio (Ca[OCl]<sub>2</sub>) se utiliza para la esterilización industrial, el blanqueamiento y el tratamiento de purificación del agua (Whittaker y Mohler 1912). Es relativamente estable y tiene más cloro disponible que el NaOCl, hasta un 65% de cloro disponible

en comparación con el 45% que se encuentra en el hipoclorito sódico (Dutta y Saunders 2012).

Por otra parte, en nuestro estudio no elevamos la temperatura del grupo correspondiente a la solución de NaOCl, el cuál se mantuvo estable a 27.1°C durante 60 minutos, ni de los grupos KB (27.6°C) ni AD (27.3°C). Sin embargo, en el grupo NaOCl + KB se produjo un aumento de temperatura desde el momento en el cuál se mezclaron las dos soluciones. La temperatura inicial de este grupo fue de 27.4°C elevándose en tan sólo 30 segundos hasta los 39.3°C, en la siguiente medición a los 5 minutos la temperatura seguía aumentando hasta llegar a los 42°C (temperatura máxima alcanzada). A partir de ese momento, teniendo en cuenta que en un procedimiento clínico realizaríamos un intercambio de irrigante constante y no mantendríamos la misma solución 5 minutos en el sistema de conductos sin refrescarlo, espaciamos los tiempos de medida de la temperatura. La siguiente medida fue a los 30 minutos con un resultado de 34.2°C. Finalmente, la solución formada por NaOCl y Keratobacter® presentaba una temperatura de 29.9°C a los 60 minutos de haber sido mezclada, siendo todavía superior a la temperatura inicial de 27.4°C. Si analizamos la capacidad disolvente podemos observar que el grupo NaOCl + KB, que llegó a alcanzar 42°C de temperatura, fue el que mayor porcentaje de reducción de peso presentó entre los puntos temporales  $t=0$  minutos y  $t=5$  minutos con un 22.5%; seguido del grupo KB con un 18.5% de reducción de peso para el mismo período de tiempo. Si comparamos los resultados con el estudio de Stojicic y cols. (2010) podemos observar la similitud en el hecho de que las soluciones que contienen sustancias surfactantes y aumentan su temperatura son las que mayor porcentaje de reducción de peso presentan.

El hipoclorito de sodio es una base fuerte ( $\text{pH}>11$ ) que a una concentración del 1% presenta una tensión superficial igual a 75 dinas/cm, una viscosidad igual a 0.986 cP, 65.5 mS de conductividad, 1.04 g/cm<sup>3</sup> de densidad y una capacidad de humectación igual a 1 h y 27 minutos. Se puede observar su mecanismo de acción antimicrobiana verificando sus características físico-químicas y su reacción con el



tejido orgánico. Estrela y cols. (1994) estudiaron el efecto biológico del pH en la actividad enzimática de las bacterias anaeróbicas. Dado que las áreas enzimáticas se encuentran en la membrana citoplasmática, que es responsable de funciones esenciales como el metabolismo, la división y el crecimiento celular, y participan en las últimas etapas de la formación de la pared celular, la biosíntesis de los lípidos, el transporte de electrones y la fosforilación de los óxidos, los autores creen que los iones hidroxilo del hidróxido de calcio desarrollan su mecanismo de acción en la membrana citoplasmática. Las enzimas extracelulares actúan sobre los nutrientes, los carbohidratos, las proteínas y los lípidos que, a través de la hidrólisis, favorecen la digestión. Por su parte, las enzimas intracelulares ubicadas en la célula favorecen la actividad respiratoria de la estructura de la pared celular. El gradiente de pH de la membrana citoplasmática se altera por la alta concentración de iones de hidróxido de calcio que actúan sobre las proteínas de la membrana (desnaturación proteica). El elevado pH del hidróxido de calcio (12.5), influido por la liberación de iones hidroxilo, altera la integridad de la membrana citoplasmática mediante lesiones químicas de los componentes orgánicos y el transporte de nutrientes, o mediante la degradación de fosfolípidos o ácidos grasos insaturados de la membrana citoplasmática, observada en el proceso de peroxidación, que es una reacción de saponificación (Estrela y cols. 1995). La eficacia antimicrobiana del hipoclorito de sodio, basada en su elevado pH (acción de los iones hidroxilo), es similar al mecanismo de acción del hidróxido de calcio. El elevado pH del hipoclorito de sodio interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática con una inhibición enzimática irreversible, alteraciones biosintéticas en el metabolismo celular y la degradación de fosfolípidos (Estrela y cols. 2002)

La disolución de tejido pulpar bovino por parte de distintas soluciones de hipoclorito de sodio (0.5, 1, 2.5, 5%) se estudió *in vitro* en diferentes condiciones (Barbin 1999, Santos 1999, Spanó y cols. 2001) concluyendo lo siguiente: 1) la velocidad de disolución de los fragmentos de pulpa bovina era directamente proporcional a la concentración de la solución de hipoclorito de sodio y era mayor sin el surfactante (Barbin 1999); 2) la variación de la tensión superficial, desde el

principio hasta el final de la disolución de la pulpa, era directamente proporcional a la concentración de la solución de hipoclorito de sodio y era mayor en las soluciones sin surfactante. Las soluciones sin ningún agente tensioactivo presentaron una disminución de la tensión superficial y las que tenían algún componente tensioactivo un aumento de la misma (Barbin 1999); 3) con la elevación de la temperatura de las soluciones de hipoclorito de sodio, la disolución del tejido de la pulpa bovina fue más rápida (Santos 1999); 4) la variación porcentual de las soluciones de hipoclorito de sodio, después de la disolución, fue inversamente proporcional a la concentración inicial de la solución o, en otras palabras, cuanto mayor era la concentración inicial de las soluciones de hipoclorito de sodio, menor era la reducción de su pH (Spanó y cols. 2001).

El cloro disponible es la suma de las concentraciones de HOCl y OCl<sup>-</sup> en la solución (Bloomfield y Miles 1979). El cloro disponible podría definirse como una medida de la capacidad de oxidación y se expresa en términos de la cantidad de cloro elemental. Se considera que el HOCl es un oxidante más fuerte que el ión hipoclorito. La molécula de ácido hipocloroso (HOCl) es responsable de una fuerte acción de cloración y oxidación sobre los tejidos y los microorganismos. La disociación del ácido hipocloroso depende del pH, manteniéndose el equilibrio clínico entre el HOCl y el OCl<sup>-</sup> a medida que el HOCl se consume a través de su función germicida. Baker (1959) trazó la relación entre el HOCl, el OCl<sup>-</sup> y el pH. A un pH 10, básicamente todo el cloro está en forma de OCl<sup>-</sup>, y lo contrario ocurre a un pH de 4.5, donde todo el cloro está en forma de HOCl. Las propiedades desinfectantes disminuyen con un pH más alto, paralelamente a la concentración de ácido hipocloroso disociado. Bloomfield y Miles (1979) confirmaron que las soluciones de NaOCl a un pH menor poseen una mayor actividad antimicrobiana. Andrews y Orton (1904) estuvieron entre los primeros autores que sugirieron que el ácido hipocloroso era responsable de la destrucción de microorganismos.

El estudio de Christensen y cols. (2008) evaluaron como afecta disminuir el valor del pH a la capacidad disolutiva del NaOCl. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad disolvente de las soluciones de hipoclorito sódico a concentraciones

de 2.6 y 5.25% a pH 6, pH 9 y pH 12. Cuando se comparan las concentraciones de 5.25% y 2.6% dentro de grupos con el mismo pH y sin tener en cuenta el intervalo de tiempo, el porcentaje de pérdida de peso fue estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ) a pH 12 y pH 9. Cuando se validó el pH a 6, no hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de 5.25% y 2.6% de NaOCl. Estos resultados refuerzan el concepto de que la concentración de NaOCl es un factor determinante en la disolución tisular a niveles de pH 12 y 9. Cuando se examinó únicamente el pH entre soluciones con la misma concentración, no hubo diferencias significativas entre los grupos de pH 12 y pH 9, pero se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de pH 12 y pH 9 frente al grupo de pH 6. Los autores concluyeron por tanto que a medida que disminuye el pH la capacidad antibacteriana aumenta, pero la disolución tisular disminuye. Por su parte, Zehnder y cols. (2002) compararon soluciones no tamponadas de NaOCl al 0.5% y 2.5% respecto a soluciones de NaOCl al 0.5% tamponadas a pH 12 y pH 9. Utilizaron bicarbonato de sodio al 1% ( $\text{NaHCO}_3$ ) y carbonato de sodio al 5% ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) como tampones para cambiar el pH del NaOCl. Informaron que la solución de NaOCl al 2.5% era sustancialmente más efectiva que cualquiera de las dos soluciones al 0.5% en cuanto a la disolución tisular. También encontraron que amortiguar la solución al 0.5% hasta el pH 9 tenía poco efecto en las propiedades de disolución tisular cuando se comparaba con la solución sin amortiguar (pH 12) al 0.5%. Por nuestra parte, en este estudio se utilizó NaOCl a pH 11.77 (grupo NaOCl), Keratobacter® a pH 3.94 (grupo KB) y la mezcla de ambas soluciones que presentó un pH resultante de 3.15 (grupo NaOCl + KB). En cuanto a la disolución tisular, se encontraron diferencias significativas de peso entre los diferentes grupos experimentales después de 5, 10 y 15 minutos de incubación ( $P < 0.05$ ), con la única excepción de KB versus NaOCl + KB ( $P = 0.138$ ) a  $t = 15$  minutos. A  $t = 20$  minutos, no se encontraron diferencias significativas en el peso entre los grupos experimentales NaOCl versus NaOCl + KB ( $P = .483$ ), NaOCl versus KB ( $P = .620$ ), y NaOCl + KB versus KB ( $P = .836$ ). El mayor porcentaje de reducción de peso se produjo entre los puntos temporales  $t = 0$  minutos y  $t = 5$  minutos en el grupo NaOCl + KB (22.5%) seguido de KB (18.5%) para el mismo período de tiempo. El NaOCl presentó una disolución tisular similar durante los diferentes puntos de tiempo,

que oscilaron entre el 7.8% (t = 10 minutos- t = 15 minutos) y el 6.8% (t = 15 minutos- t = 20 minutos). El grupo NaOCl + KB y el grupo KB disolvieron más materia orgánica durante los 5 primeros minutos que el grupo NaOCl. En el caso del grupo NaOCl + KB atribuimos esa capacidad disolutiva principalmente a la elevación de la temperatura que influyó en mayor medida que la disminución de su pH en cuanto a su capacidad disolutiva.

## **VII - CONCLUSIONES**



## VII - CONCLUSIONES

1. Todas las soluciones de irrigación empleadas en este estudio, excepto el agua destilada, son capaces de disolver tejido orgánico de manera eficiente.
2. Existe una mayor disolución de tejido orgánico en el grupo que combina NaOCl y Keratobacter® en una proporción de 9:1 vol/vol.
3. Existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a disolución tisular, desde el minuto 0 al minuto 15, a favor del grupo NaOCl+KB respecto al grupo NaOCl.
4. La mezcla de NaOCl y Keratobacter® en una proporción de 9:1 vol/vol da lugar a un aumento de hasta 14.6 °C de temperatura de la solución resultante. Este aumento de temperatura se relaciona con una mayor capacidad de disolución tisular lo cuál quedó probado en este estudio.
5. La mezcla de NaOCl y Keratobacter® en una proporción de 9:1 vol/vol da lugar a una solución resultante con un pH de 3.15.





## **VIII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN**



### VIII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

A pesar de los esfuerzos realizados por realizar un estudio lo más semejante posible a la realidad clínica, las muestras fueron sumergidas en vasos de precipitado. Esto supone una limitación para el estudio ya que no conseguimos asemejar la situación clínica tanto como se puede conseguir con un sistema cerrado. Por otra lado, las soluciones irrigantes no fueron repuestas durante los 20 minutos que duró la inmersión de cada muestra. Teniendo en cuenta que la clorina, principal responsable de la capacidad disolutiva del hipoclorito sódico, pierde actividad en pocos minutos pensamos que un constante intercambio de la solución irrigante fresca hubiera sido lo ideal.

El Keratobacter® es un acondicionador de conductos o solución irrigante sobre el cual se ha investigado muy poco hasta ahora. Los resultados de este estudio parecen indicar que el Keratobacter® puede ser una solución irrigante que combinada con hipoclorito sódico mejore las propiedades que este presenta en solitario. Por ello consideramos importante investigar en los siguientes campos: medición del cloro disponible en la solución de hipoclorito sódico cuando ambos productos son mezclados; citotoxicidad de ambos productos combinados y del Keratobacter® en solitario; capacidad de disolver materia inorgánica; capacidad antimicrobiana o como afecta a la resistencia estructural su uso como solución irrigante.



## **IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



**IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Abbott PV, Heijkoop PS, Cardaci SC, Hume WR, Heithersay GS. An SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endod J* 1991;24:308-16.

Abou-Rass M, Oglesby SW. The effects of temperature, concentration, and tissue type on the solventability of sodium hypochlorite. *J Endod* 1981;7:376-7.

Abou-Rass M, Patonai FJ. The effects of decreasing surface tension on the flow of irrigating solutions in narrow root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;53:524-6.

Abou-Rass M, Piccinino MV. The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;54:323-8.

Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: an insight into the mechanisms involved. *J Endod* 1987;13:93-101.

Ahmad M, Pitt Ford TJ, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. *J Endod* 1987;13:490-9.

Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA, Walton AJ. Ultrasonic debridement of root canals: acoustic cavitation and its relevance. *J Endod* 1988;14:486-93.

Ahmad M, Roy RA, Kamarudin AG. Observations of acoustic streaming fields around an oscillating ultrasonic file. *Endod Dent Traumatol* 1992;8:189-94.

Almeida LHSD, Gomes APN, Giardino L, Souza EM, Pappen FG. Pulp tissue dissolution capacity of sodium hypochlorite combined with cetrimide and polypropylene glycol. *Braz Dent J* 2013;24:477-81.

Al-Hadlaq SM, Al-Turaiki SA, Al-Sulami U, Saad AY. Efficacy of a new brush-covered irrigation needle in removing root canal debris: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 2006;32:1181-4.

Al-Omari MA, Dummer PM. Canal blockage and debris extrusion with eight preparation techniques. *J Endod* 1995;21:154-8.

Al-Qudah AA, Awawdeh LA. Root and canal morphology of mandibular first and second molar teeth in a Jordanian population. *Int Endod J* 2009;42:775-84.

Alves FR, Almeida BM, Neves MA, Moreno JO, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Disinfecting oval-shaped root canals: effectiveness of different supplementary approaches. *J Endod* 2011;37:496-501.

Al-Zahrani MS, Al-Zahrani AG. Sodium hypochlorite accident in endodontics: An update review. *Int J Dent Oral Heal* 2016;2:1-4.

Andrews FW, Orton KSP. Disinfectant action of hypochlorous acid. *Zentralbl Bakteriol (Orig A)* 1904;35:645-51.

Aparecida M, Fernandes J. Influence of the container and environmental factors in the stability of sodium hypochlorite. *Bol Oficina Sanit Panam* 1996;121:301-9.

Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *J Endod* 2004;30:792-5.



Arias-Moliz MT, Ordinola-Zapata R, Baca P, Ruiz- Linares M, Ferrer-Luque CM. Antimicrobial activity of a sodium hypochlorite/etidronic acid irrigant solution. *J Endod* 2014;40:1999–2002.

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

Asboe-Jorgensen V, Attstrom R, Lang NP, Løe H. Effect of a chlorhexidine dressing on the healing after periodontal surgery. *J Periodontol* 1974;45:13–7.

Aubut V, Pommel L, Verhille B, Orsière T, Garcia S, About I, Camps J. Biological properties of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite solution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109:e120–e125.

Austin JH, Taylor HD. Behavior of hypochlorite and of chloramine-T solutions in contact with necrotic and normal tissue in vivo. *J Exp Med* 1918;27:627-33.

Baker RW. Studies on the reaction between sodium hypochlorite and proteins: 1. Physico-chemical study of the course of the reaction. *Biochem J* 1947;41:337–42.

Baker RJ. Types and significance of chlorine residuals. *J Am Water Works Assoc* 1959;51:1185–90.

Barbin EL. Estudo “in vitro” do efeito da adição de lauril dietilenoglicol éter sulfato de sódio nas soluções hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino. [Master’s thesis]. Ribeirão Preto: University of São Paulo; 1999. 108p.

Baratto-Filho F, Fariniuk LF, Ferreira EL, Pécora JD, Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD. Clinical and macroscopic study of maxillary molars with two palatal roots. *Int Endod J* 2002;35:796–801.

Barbosa CA, Gonçalves RB, Siqueira JF Jr, De Uzeda M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J Endod* 1997;23:297–300.

Barker BC, Lockett BC, Parsons KC. The demonstration of root canal anatomy. *Aust Dent J* 1969;14:37–41.

Barker BC, Parsons KC, Mills PR, Williams GL. Anatomy of root canals. I. Permanent incisors, canines and premolars. *Aust Dent J* 1973;18:320–7.

Barker BC, Parsons KC, Mills PR, Williams GL. Anatomy of root canals. III. Permanent mandibular molars. *Aust Dent J* 1974;19:408–13.

Barker BC, Parsons KC, Mills PR, Williams GL. Anatomy of root canals. II. Permanent maxillary molars. *Aust Dent J* 1974;19:46–50.

Barnhart BD, Chuang A, Lucca JJ, Roberts S, Liewehr F, Joyce AP. An in vitro evaluation of the cytotoxicity of various endodontic irrigants on human gingival fibroblasts. *J Endod* 2005;31:613–5.

Barone C, Dao TT, Basrani BB, Wang N, Friedman S. Treatment outcome in endodontics: the Toronto study—phases 3, 4, and 5: apical surgery. *J Endod* 2010;36:28–35.

Basaiwala AK, Shetty K, Nath KS. Comparative evaluation of temperature changes on tissue-dissolution ability of sodium hypochlorite, calcium hypochlorite, and chlorine dioxide. *Saudi Endod J* 2018;8:208–11.

Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod* 2004;30:413–7.

Basrani B, Lemonie, C. Chlorhexidine gluconate. *Aust Endod J* 2005;31:48-52.

Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus O, Huang J 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 B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP et al. Efficacy of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;96:618–24.

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

Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions. *Endod Top* 2012;27:74-102.

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

Basrani B, Malkhassian G. Update of endodontic irrigating solutions. In: Basrani B, ed. *Endodontic irrigation: chemical disinfection of the root canal system*. 1<sup>st</sup> ed. Springer International Publishing Switzerland; 2015. p. 99-115.

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

Baumgartner JC, Mader C. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod* 1987;13:147-52.

Becking AG. Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991;72:346-8.

Beeson TJ, Hartwell GR, Thornton JD, Gunsolley JC. Comparison of debris extruded apically in straight canals: conventional filing versus profile .04 aper series 29. *J Endod* 1998;24:18-22.

Bence R, Weine FS. *Handbook of clinical endodontics*. 2nd edition St Louis, The C.V. Mosby Company, 1980, p.1.

Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Beullens M, Wevers M, Van Meerbeek B, Lambrechts P. Smooth flexible versus active tapered shaft design using NiTi rotary instruments. *Int Endod J* 2002;35:820-8.

Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Beullens M, Wevers M, Van Meerbeek B, Lambrechts P. Progressive versus constant tapered shaft design using NiTi rotary instruments. *Int Endod J* 2003;36:288-95.

Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Wevers M, Lambrechts P. A methodology for quantitative evaluation of root canal instrumentation using microcomputed tomography. *Int Endod J* 2001;34:390-8.

Berutti E, Castellucci A. Cleaning and shaping the root canal system. In: Castellucci A, editor. *Endodontics*, vol. II. 1st ed. Firenze: Il Tridente; 2005. p. 429-57.

Berutti E. Computerized analysis of the instrumentation of the root canal system. *J Endod* 1993;19:236-8.

Bille ML, Kvetny MJ, Kjaer I. A possible association between early apical resorption of primary teeth and ectodermal characteristics of the permanent dentition. *Eur J Orthod* 2008;30:346–51.

Black GV. *Descriptive anatomy of the human teeth*. Philadelphia: The Wilmington Dental Manufacturing co;1890.

Blašković-Šubat V, Smojver B, Maričić B, Sutalo J. A computerized method for the evaluation of root canal morphology. *Int Endod J* 1995;28:290–6.

Bernstein EF, Lee J, Brown DB, Yu R, Van Scott E. Glycolic acid treatment increases type I collagen mRNA and hyaluronic acid content of human skin. *Dermatologic Surg* 2001;27:429–33.

Bloomfield SF, Miles G. The relationship between residual chlorine and disinfection capacity of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in the presence of *E. coli* and milk. *Microbios* 1979;10:33–43.

Bloomfield SF, Miles GA. The antibacterial properties of sodium dichloroisocyanurate and sodium hypochlorite formulations. *J Appl Bacteriol* 1979;46:65-73.

Bosch-Aranda ML, Vázquez-Delgado E, Gay-Escoda C. Atypical odontalgia: a systematic review following the evidence-based principles of dentistry. *Cranio* 2011;29:219–26.

Boutsioukis C, Lambrianidis T, Kastrinakis E, Bekiaroglou P. Measurement of pressure and flow rates during irrigation of a root canal ex vivo with three endodontic needles. *Int Endod J* 2007;40:504–13.

Boutsioukis C, Lambrianidis T, Vasiliadis L. Clinical relevance of standardization of endodontic irrigation needle dimensions according to the ISO 9626:1991 & 9626:1991/Amd 1:2001 specification. *Int Endod J* 2007;40:700–6.

Boutsioukis C, Lambrianidis T, Verhaagen B, Versluis M, Kastrinakis E, Wesselink P et al. The effect of needle insertion depth on the irrigant flow in the root canal: evaluation using an unsteady computational fluid dynamics model. *J Endod* 2010;36:1664–8.

Boutsioukis C, Verhaagen B, Versluis M, Kastrinakis E, Wesselink P, Van der Sluis LWM. Evaluation of irrigant flow in the root canal using different needle types by an unsteady computational fluid dynamics model. *J Endod* 2010;36:875–9.

Boutsioukis C, Gogos C, Verhaagen B, Versluis M, Kastrinakis E, Van der Sluis LWM. The effect of apical preparation size on irrigant flow in root canals evaluated using an unsteady computational fluid dynamics model. *Int Endod J* 2010;43:874–81.

Boutsioukis C, Gogos C, Verhaagen B, Versluis M, Kastrinakis E, Van der Sluis LWM. The effect of root canal taper on the irrigant flow: evaluation using an unsteady computational fluid dynamics model. *Int Endod J* 2010;43:909–16.

Boutsioukis C, Verhaagen B, Walmsley AD, Versluis M, Van der Sluis LWM. Measurement and visualization of file-to-wall contact during ultrasonically activated irrigation in simulated canals. *Int Endod J* 2013;46:1046–55.

Boutsioukis C, Kastrinakis E, Lambrianidis T, Verhaagen B, Versluis M, Van der Sluis LWM. Formation and removal of apical vapor lock during syringe irrigation: a combined experimental and computational fluid dynamics approach. *Int Endod J* 2014;47:191–201.

Boutsioukis C, Van der Sluis LWM. Syringe irrigation: endodontics and fluid dynamics. In: Basrani B, ed. Endodontic irrigation: chemical disinfection of the root canal systems. 1<sup>st</sup> ed. Springer International Publishing Switzerland; 2015, p. 45 - 64.

Bowden J, Ethunandan M, Brennan P. Life-threatening airway obstruction secondary to hypochlorite extrusion during root canal treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:402-4.

Brito PR, Souza LC, Machado de Oliveira JC, Alves FR, De Deus G, Lopes HP, et al. Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal *Enterococcus faecalis* populations: an in vitro study. *J Endod* 2009;35:1422-7.

Bronnec F, Bouillaguet S, Machtou P. Ex vivo assessment of irrigant penetration and renewal during the final irrigation regimen. *Int Endod J* 2010;43:663-72.

Brown DC, Moore BK, Brown CE Jr, Newton CW. An in vitro study of apical extrusion of sodium hypochlorite during endodontic canal preparation. *J Endod* 1995;21:587-91.

Brunson M, Heilborn C, Johnson JD, Cohenca N. Effect of apical preparation size and preparation taper on irrigant volume delivered by using negative pressure irrigation system. *J Endod* 2010;36:721-4.

Buchanan LS. Cleaning and shaping the root canal system. In: Cohen S, Burns RC, editors. *Pathways of the pulp*. 5th ed. CV Mosby: St Louis; 1991. p. 166-92.

Burch JG, Hulen S. The relationship of the apical foramen to the anatomic apex of the tooth root. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972;34:262-8.

Burger CL, Mork TO, Hutter JW, Nicoll B. Direct digital radiography versus conventional radiography for estimation of canal length in curved canals. *J Endod* 1999;25:260-3.

Burleson A, Nusstein J, Reader A, Beck M. The in vivo evaluation of hand/rotary/ultrasound instrumentation in necrotic, human mandibular molars. *J Endod* 2007;33:782-7.

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

Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;55:307-12.

Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1985;1:170-5.

Caliskan MK, Pehlivan Y, Sepetcioglu F, Turkun M, Tuncer SS. Root canal morphology of human permanent teeth in a Turkish population. *J Endod* 1995;21:200-4.

Cameron JA. The effect of a fluorocarbon surfactant on the surface of the endodontic irrigant, sodium hypochlorite. A preliminary report. *Aust Dent J* 1986;31:364-8.

Carabelli G. *Systematisches Handbuch der Zahnheilkunde*. II. Anatomic des Mundes. Vienna: Braumuller and Siedel; 1842.



Cecchin D, Farina AP, Vidal CM, Bedran-Russo AK. A novel enamel and dentin etching protocol using  $\alpha$ -hydroxy glycolic acid: surface property, etching pattern, and bond strength studies. *Oper Dent* 2018;43:101–10.

Chávez de Paz LE. Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *J Endod* 2007;33:652–62.

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

Chow TW. Mechanical effectiveness of root canal irrigation. *J Endod* 1983;9:475–9.

Christensen CE, McNeal SF, Eleazer P. Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro. *J Endod* 2008;4:449–52.

Clarkson RM, Moule AJ. Sodium hypochlorite and its use as an endodontic irrigant. *Aust Dent J* 1998;43:250–6.

Clarkson RM, Moule AJ, Podlich HM. The shelf-life of sodium hypochlorite irrigating solutions. *Aust Dent J* 2001;46:269-76.

Clarkson RM, Kidd B, Evans GE, Moule AJ. The effect of surfactant on the tissue dissolution of porcine pulpal tissue by sodium hypochlorite solutions. *J Endod* 2012;38:1257–60.

Clarkson RM, Smith TK, Kidd BA, Evans GE, Moule AJ. Assessment of residual active chlorine in sodium hypochlorite solutions after dissolution of porcine incisor pulpal tissue. *Aust Dent J* 2013;58:428-33.

Conde AJ, Estevez R, Loroño G, Valencia de Pablo O, Rossi-Fedele G, Cisneros R. Effect of sonic and ultrasonic activation on organic tissue dissolution from simulated grooves in root canals using sodium hypochlorite and EDTA. *Int Endod J* 2017;50:976-82.

Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:711-45.

Costerton JW. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318-22.

Costerton JW. *The biofilm primer*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2007.

Costigan SM. Effectiveness of hot hypochlorites of low alkalinity in destroying *Mycobacterium tuberculosis*. *J Bacteriol* 1936;32:57-63.

Cotter JL, Fader RC, Lilley C, Herndon DN. Chemical parameters, antimicrobial activities, and tissue toxicity of 0.1 and 0.5% sodium hypochlorite solutions. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;28:118-22.

Couto De Oliveira G, Ferraz CS, Andrade Júnior CV, Pithon MM. Chlorhexidine gel associated with papain in pulp tissue dissolution. *Restor Dent Endod* 2013;38:210-4.

Cunningham W, Joseph SW. Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980;50:569-71.

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

Cunningham WT, Cole JS, Balekjian AY. Effect of alcohol on the spreading ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg* 1982;54:333-5.

Cunningham WT, Martin H, Forrest WR. Evaluation of root canal debridement by the endosonic ultrasonic synergistic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 53:401-4.

Cunningham WT, Martin H, Pelleu GB Jr., Stoops DE. A comparison of antimicrobial effectiveness of endosonic and hand root canal therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;54:238-41.

Cunningham WT, Martin H. A scanning electron microscope evaluation of root canal debridement with the endosonic ultrasonic synergistic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;53:527-31.

Cutright DE, Bhaskar SN. Pulpal vasculature as demonstrated by a new method. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1969;27:678-83.

Cvek M, Nord CE, Hollender L. Antimicrobial effect of root canal debridement in teeth with immature root: a clinical and microbiological study. *Odontol Revy* 1976; 27:1-10.

Dakin HD. On the use of certain antiseptic substances in treatment of infected wounds. *Br Med J* 1915;2:318-20.

Dalton BC, Ørstavik D, Phillips C, Pettiette M, Trope M. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod* 1998;24:763-7.

Dal Bello Y, Porsch HF, Farina AP, Souza MA, Silva EJNL, Bedran-Russo AK et al. Glycolic acid as the final irrigant in endodontics: Mechanical and cytotoxic effects. *Mater Sci Eng* 2019;100:323-9.

Dankner E, Friedman S, Stabholz A. Bilateral C-shape configuration in maxillary first molars. *J Endod* 1990;16:601-3.

Davies A. The mode of action of chlorhexidine. *J Periodontal Res* 1973;12:68-9.

de Almeida LHS, Leonardo NGES, Gomes APN, Souza EM, Pappen FG. Influence of EDTA and dentine in tissue dissolution ability of sodium hypochlorite. *Aust Endod J* 2015;41:7-11.

de Chevigny C, Dao TT, Basrani BR, Marquis V, Farzaneh M, Abitbol S et al. Treatment outcome in endodontics: the Toronto study—phases 3 and 4: orthograde retreatment. *J Endod* 2008;34:131-7.

de Chevigny C, Dao TT, Basrani BR, Marquis V, Farzaneh M, Abitbol S et al. Treatment outcome in endodontics: the Toronto study—phase 4: initial treatment. *J Endod* 2008;34:258-63.

De-Deus QD. Frequency, location, and direction of the lateral, secondary, and accessory canals. *J Endod* 1975;1:361-6.

de Gregorio C, Estévez R, Cisneros R, Heilborn C, Cohenca N. Effect of EDTA, sonic, and ultrasonic activation on the penetration of sodium hypochlorite into simulated lateral canals: an in vitro study. *J Endod* 2009;35:891-5.

de Gregorio C, Estévez R, Cisneros R, Paranjpe A, Cohenca N. Efficacy of different irrigation and activation systems on the penetration of sodium hypochlorite into simulated lateral canals and up to working length: an in vitro study. *J Endod* 2010;36:1216-21.

de Moor RJG. C-shaped root canal configuration in maxillary first molars. *Int Endod J* 2002;35:200-8.

de Pablo OV, Estévez R, Péix Sánchez M, Heilborn C, Cohenca N. Root anatomy and canal configuration of the permanent mandibular first molar: a systematic review. *J Endod* 2010;36:1919-31.

de Paula KB, Carlotto IB, Marconi DF, Ferreira MBC, Grecca FS, Montagner F. Calcium hypochlorite solutions—An in vitro evaluation of antimicrobial action and pulp dissolution. *Eur Endod J* 2019;4:15-20.

del Carpio-Perochena A, Bramante CM, Andrade FB, Maliza AG, Cavenago BC, Marciano MA, et al. Antibacterial and dissolution ability of sodium hypochlorite in different pHs on multi-species biofilms. *Clin Oral Investig* 2015;19:2067–73.

Denton GW. Chlorhexidine. In: Block SS, ed. *Disinfection, sterilization and preservation*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2001, p. 321-336.

Desai P, Himel V. Comparative safety of various intracanal irrigation systems. *J Endod* 2009;35:545–9.

Drutman ACS, Stock CJR. An in vitro comparison of ultrasonic and conventional methods of irrigant replacement. *Int Endod J* 1989;22:174–8.

Dumitriu D, Dobre T. Effects of temperature and hypochlorite concentration on the rate of collagen dissolution. *J Endod* 2015;4:903-6.

Dutner J, Mines P, Anderson A. Irrigation trends among American Association of Endodontists members: a web-based survey. *J Endod* 2012;38:37–40.

Dutta A, Saunders WP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *J Endod* 2012;38:1395-8.

Ehrich DG, Brian JD Jr, Walker WA. Sodium hypochlorite accident: inadvertent injection into the maxillary sinus. *J Endod* 1993;19:180-2.

Elliott JC, Dover SD. X-ray microtomography. *J Microsc* 1982;126:211-3.

Emilson CG, Ericson T, Heyden G, Magnusson BC. Uptake of chlorhexidine to hydroxyapatite. *J Periodontal Res Suppl* 1973;17:17-21.

Eneide C, Castagnola R, Martini C, Grande NM, Bugli F, Patini R, et al. Antibiofilm activity of three different irrigation techniques: an in vitro study. *Antibiotics* 2019;8:112-9.

Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gul 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.

Ertugrul IF, Maden M, Orhan EO, Ozkorucuklu SP, Aglarca AV. Rapid tissue dissolution efficiency of electrically-activated sodium hypochlorite on bovine muscle. *Eur J Dent* 2014;8:464-8.

Estévez R, Conde AJ, de Pablo OV, de la Torre F, Rossi-Fedele G, Cisneros R. Effect of passive ultrasonic activation on organic tissue dissolution from simulated grooves in root canals using sodium hypochlorite with or without surfactants and EDTA. *J Endod* 2017;43:1161-5.

Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Fellipe Jr O. Estudo do efeito biológico do pH na atividade enzimática de bactérias anaeróbias. *Rev Fac Odontol Bauru* 1994;2:29-36.

Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Jr O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J* 1995;6:85-90.

Estrela C, Pimenta F, Ito I, Bammann L. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. *J Endod* 1998;24:15-7.

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

Fabian TM, Walker SE. Stability of sodium hypochlorite solutions. *Am J Hosp Pharm* 1982;39:1016-7.

Falk KW, Sedgley CM. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro. *J Endod* 2005;31:742-5.

Fan B, Pan Y, Gao Y, Fang F, Wu Q, Gutmann JL. Three-dimensional morphologic analysis of isthmuses in the mesial roots of mandibular molars. *J Endod* 2010;36:1866-9.

Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc* 1986;112:863-9.

Farzaneh M, Abitbol S, Lawrence HP, Friedman S. Treatment outcome in endodontics- the Toronto Study. Phase II: initial treatment. *J Endod* 2004;30:302-9.

Figdor, D. Apical periodontitis: a very prevalent problem. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;94:651-2.

Fisher G. Beitrage zur behandlung enkrankter zahne mit besonderer beucksichtigung der anatomie und pathologie der wurzelkanale. Leipzig: Georg Thiéme; 1908.

Flanders DH. Endodontic patency. How to get it. How to keep it. Why it is so important. NY State Dent J 2002;68:30–2.

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.

Friedman S. Treatment outcome and prognosis of endodontic therapy. In: Ørstavik D, Pitt Ford TR, eds. Essential endodontology: Prevention and treatment of apical periodontitis. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford: Blackwell Science; 2020, p. 367-401.

Friedman S, Abitbol S, Lawrence HP. Treatment outcome in endodontics: the Toronto Study. Phase 1: initial treatment. J Endod 2003;29:787-93.

Fukumoto Y, Yoshioka T, Suda H. Intracanal aspiration technique for root canal irrigation. Part 1. Overflow of irrigating solution beyond the apical foramen. The Japanese J of Conservative Dentistry 2004;47:37-42.

Fukumoto Y. Intracanal aspiration technique for root canal irrigation: evaluation of smear layer removal. The J of the Stomatological Society 2005;72:13-8.

Gambarini G, De Luca M, Gerosa R. Chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigants. J Endod 1998;24:432-4.

Gambill JM, Alder M, del Rio CE. Comparison of nickel-titanium and stainless steel hand-file instrumentation using computed tomography. J Endod 1996;22:369–75.



Gerhardt DE, Williams HN. Factors affecting the stability of sodium hypochlorite solutions used to disinfect dental impressions. *Quintessence Int* 1991;22:587–91.

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

Giangregio E. Changing concepts in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc* 1985; 110:470–8.

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.

Gilbert P, Das J, Foley I. Biofilm susceptibility to antimicrobials. *Adv Dent Res* 1997;11:160–7.

Gilles J, Reader A. An SEM investigation of the mesiolingual canal in human maxillary first and second molars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;70:638–43.

Glantz PO, Hansson L. Wetting of dentine by some root canal medicaments. *Odontol Revy* 1972;23:205-10.

Glossary of endodontic terms. 7th ed. Chicago: American Association of Endodontists; 2003.

Goldman M, Kronman JH, Goldman LB, Clausen H, Grady J. New method of irrigation during endodontic treatment. *J Endod* 1976;2:257–60.

Gomes B, Ferraz C, Vianna M, Berber V, Teixeira F, Souza-Filho F. 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.

Goodman A, Reader A, Beck M, Melfi R, Meyers W. An in vitro comparison of the efficacy of the step-back technique versus a stepback/ultrasonic technique in human mandibular molars. *J Endod* 1985;11:249–56.

Gopikrishna V, Pare S, Pradeep Kumar A, Lakshmi Narayanan L. Irrigation protocol among endodontic faculty and post-graduate students in dental colleges of India: a survey. *J Conserv Dent* 2013;16:394–8.

Grande NM, Plotino G, Falanga A, Pomponi M, Somma F. Interaction between EDTA and sodium hypochlorite: a nuclear magnetic resonance analysis. *J Endod* 2006;32:460–4.

Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J* 2003;36:411–7.

Green D. Morphology of pulp cavity of the permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1955;8:743–59.

Green D. A stereomicroscopic study of the root apices of 400 maxillary and mandibular anterior teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1956;9:1224–32.

Green EN. Microscopic investigation of root canal diameters. *J Am Dent Assoc* 1958;57:636–44.

Green D. Double canals in single roots. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973;35:689–96.

Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *Int Endod J* 2001;34:113–9.

Grossman LI, Meiman BW. Solution of pulp tissue by chemical agents. *J Am Dent Assoc* 1941;28:223-5.

Gu L, Wei X, Ling J, Huang X. A microcomputed tomographic study of canal isthmuses in the mesial root of mandibular first molars in a Chinese population. *J Endod* 2009;35:353–6.

Gu LS, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *J Endod* 2009;35:791–804.

Guastalli AR, Clarkson RM, Rossi-Fedele G. The effect of surfactants on the stability of sodium hypochlorite solutions. *J Endod* 2015;41:1344–8.

Guerisoli DMZ, Silva RS, Pecora JD. Evaluation of some physico-chemical properties of different concentrations of sodium hypochlorite solutions. *Braz Endod J* 1998;3:21–3.

Gulabivala K, Aung TH, Alavi A, Ng YL. Root and canal morphology of Burmese mandibular molars. *Int Endod J* 2001;34:359-70.

Gulabivala K, Patel B, Evans G, Ng YL. Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *Endod Top* 2005;10:103–22.

Guneser MB, Arslan D, Usumez A. Tissue dissolution ability of sodium hypochlorite activated by photon-initiated photoacoustic streaming technique. *J Endod* 2015;41:729-32.

Gutierrez JH, Aguayo P. Apical foraminal openings in human teeth: number and location. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;79:769-77.

Gysi A, Röse C. Sammlung von Mikrophotographien zur Veranschaulichung der mikroskopischen Struktur der Zähne des Menschen. Zürich: Mikrophotographien der Zahnhistologie; 1894.

Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TM, Ørstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J* 2000;33:126–31.

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

Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin N Am* 2010;54:291–312.

Haapasalo M, Wang Z, Shen Y, Curtis A, Patel P, Khakpour M. Tissue dissolution by a novel multisonic ultracleaning system and sodium hypochlorite. *J Endod* 2014;40:1178-81.

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

Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004;2:95–108.

Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol* 2009;11:1034–43.

Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod* 1978;4:60–4.

Happonen RP. Periapical actinomycosis: a follow-up study of 16 surgically treated cases. *Endod Dent Traumatol* 1986;2:205-9.

Harrison JW, Hand RE. The effect of dilution and organic matter on the antibacterial property of 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod* 1981;7:128-32.

Hasselgren G, Olsson B, Cvek M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. *J Endod* 1988; 14:125-7.

Hauser V, Braun A, Frentzen M. Penetration depth of a dye marker into dentine using a novel hydrodynamic system (RinsEndo). *Int Endod J* 2007;40:644–52.

Hegedus C, Flora-Nagy E, Martos R, Juhasz A, Fulop I, Pomahazi S, et al. 3D reconstruction based on hard tissue microtome cross-section pictures in dentistry. *Comput Methods Programs Biomed* 2000;63:77–84.

Hennessey TS. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodontal Res Suppl* 1973;12:61–7.

Hess W, Zurcher E. *The Anatomy of Root Canals of the Teeth of the Permanent and Deciduous Dentitions*. New York, 1925, William Wood.

Hess W. Die pulpa amputation als selbstandige Wurzelbehandlungs methode. *Dtsch Zahnheilkd* 1952;66:71-126.

Hockett JL, Dommisch JK, Johnson JD, Cohenca N. Antimicrobial efficacy of two irrigation techniques in tapered and nontapered canal preparations: an in vitro study. *J Endod* 2008;34:1374-7.

Hoffman PN, Death JE, Coates D. The stability of sodium hypochlorite solutions. In: Collins CH, Allwood MC, Bloomfield SF, eds. *Disinfectants: Their Use and Evaluation of Effectiveness*. London: Academic Press;1991, p. 77– 83.

Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35:322–32.

Hounsfield GN. Computerized transverse axial scanning (tomography). 1. Description of system. *Br J Radiol* 1973;46:1016–22.

Hsieh YD, Gau CH, Kung Wu SF, Shen EC, Hsu PW, Fu E. Dynamic recording of irrigating fluid distribution in root canals using thermal image analysis. *Int Endod J* 2007;40:11–7.

Hua X, Cao R, Zhou X, Xu Y. One-step continuous/semi-continuous whole-cell catalysis production of glycolic acid by a combining bioprocess with in-situ cell recycling and electro dialysis. *Bioresour Technol* 2018;273:515–20.

Huang TY, Gulabivala K, Ng YL. A bio-molecular film ex-vivo model to evaluate the influence of canal dimensions and irrigation variables on the efficacy of irrigation. *Int Endod J* 2008;41:60–71.

Hübscher W, Barbakow F, Peters OA. Root-canal preparation with FlexMaster: canal shapes analysed by micro-computed tomography. *Int Endod J* 2003;36:740–7.

Hugo W, Longworth A. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *J Pharm Pharmacol* 1964;16:751–8.

Hugo WB, Longworth AR. The effect of chlorhexidine on the electrophoretic mobility, cytoplasmic constituents, dehydrogenase activity and cell walls of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmacol* 1966;18:569–78.

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

Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J* 2003;36:810–30.

Hülsmann M, Rödiger T, Nordmeyer S. Complications during root canal irrigation. *Endod Top* 2007;16:27–63.

Hülsmann M, Schäfer E. Apical patency: fact and fiction-a myth or a must? A contribution to the discussion. *Endo* 2009;3:285-307.

Iandolo A, Dagna A, Poggio C, Capar I, Amato A, Abdellatif D. Evaluation of the actual chlorine concentration and the required time for pulp dissolution using different sodium hypochlorite irrigating solutions. *J Conserv Dent* 2019;22:108-13.

ISO 9626. Stainless steel needle tubing for manufacture of medical devices. Amendment 1. Geneva: International Organization for Standardization; 2001. p. 1–5.

Jamleh A, Fukumoto Y, Takatomo Y, Kobayashi C, Suda H, Adorno CG. A comparison between two negative pressure irrigation techniques in simulated immature tooth: an ex vivo study. *Clin Oral Invest* 2016;20:125-31.

Jeanson 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.

Jensen SA, Walker TL, Hutter JW, Nicoll BK. Comparison of the cleaning efficacy of passive sonic activation and passive ultrasonic activation after hand instrumentation in molar root canals. *J Endod* 1999;25:735–8.

Jiang LM, Verhaagen B, Versluis M, van der Sluis LWM. Influence of the oscillation direction of an ultrasonic file on the cleaning efficacy of passive ultrasonic irrigation. *J Endod* 2010;36:1372–6.

Johnson BR, Remeikis NA. Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. *J Endod* 1993;19:40-3.

Johnson SA, Goddard PA, Iliffe C, Timmins B, Rickard AH, Robson G, et al. Comparative susceptibility of resident and transient hand bacteria to para-chloro-meta-xyleneol and triclosan. *J Appl Microbiol* 2002;93:336–44.

Jontell M, Okiji T, Dahlgren U, Bergenholtz G. Immune defense mechanisms of the dental pulp. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9:179-200.

Jungbluth H, Marending M, De Deus G, Sener B, Zehnder M. Stabilizing sodium hypochlorite at high pH: effects on soft tissue and dentin. *J Endod* 2011;37:693-6.

Jungbluth H, Peters C, Peters O, Sener B, Zehnder M. Physicochemical and pulp tissue dissolution properties of some household bleaches compared with a dental sodium hypochlorite solution. *J Endod* 2012;38:372–5.

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

Kamburis JJ, Barker TH, Barfield RD, Eleazer PD. Removal of organic debris from bovine dentine shavings. *J Endod* 2003;29:559-61.



Kartal N, Cimilli HK. The degrees and configurations of mesial canal curvatures of mandibular first molars. *J Endod* 1997;23:358–62.

Kartal N, Yanikoglu FC. Root canal morphology of mandibular incisors. *J Endod* 1992;18:562-4.

Keir DM, Senia ES, Montgomery S. Effectiveness of a brush in removing post instrumentation canal debris. *J Endod* 1990;16:323–7.

Kerekes K, Tronstad L. Morphometric observations on the root canals of human molars. *J Endod* 1977;3:114–8.

Khademi AA, Usefian E, Feizianfard M. Tissue dissolving ability of several endodontic irrigants on bovine pulp tissue. *Iran Endod J* 2007;2:65-8.

Khademi AA, Mohammadi Z, Davari AR. Evaluation of the antibacterial substantivity of three concentrations of chlorhexidine in bovine root dentine. *Iran Endod J* 2008;2:112–5.

Kishen A. Advanced therapeutic options for endodontic biofilms. *Endod Top* 2012;22:99–123.

Kishen A, Peters OA, Zehnder M, Diogenes AR, Nair MK. Advances in endodontics: Potential applications in clinical practice. *J Conserv Dent* 2016;19: 199-206.

Kleier DJ, Averbach RE, Mehdipour O. The sodium hypochlorite accident: experience of diplomates of the American Board of Endodontics. *J Endod* 2008;34:1346–50.

Kolosowski KP, Sodhi RN, Kishen A, Basrani BR. Qualitative analysis of precipitate formation on the surface and in the tubules of dentin irrigated with sodium hypochlorite and a final rinse of chlorhexidine or QMiX. *J Endod* 2014;40:2036–40.

Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 2000;26:315–7.

Koskinen KP, Stenvall H, Uitto VJ. Dissolution of bovine pulp tissue by endodontic solutions. *Eur J Oral Sci* 1980;88:406–11.

Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod* 1998;24:472–6.

Lester KS, Boyde A. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J* 1977;143:359–67.

Levin L, Trope M. Root resorption. In: Hargreaves KM, Goodis HE, eds. *Seltzer and Benders dental pulp*. Chicago, IL: Quintessence Publishing Co Inc; 2002, p.425–48.

Lima KC, Fava LR, Siqueira JF Jr. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. *J Endod* 2001;27:616–9.

Lin LM, Pascon EA, Skribner J, Gangler P, Langeland K. Clinical, radiographic, and histologic study of endodontic treatment failures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991;71:603–11.

Lin LM, Skribner JE, Gaengler P. Factors associated with endodontic treatment failures. *J Endod* 1992;18:625–7.

Lindskog S, Pierce A, Blomlof L. Chlorhexidine as a root canal medicament for treating inflammatory lesions in the periodontal space. *Endod Dent Traumatol* 1998;14:181–90.

Löe H, Schiott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontal Res* 1970;5:79–83.

Löe H. Does chlorhexidine have a place in the prophylaxis of dental diseases?. *J Periodontal Res* 1973;12:93–9.

Loel DA. Use of acid cleanser in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc* 1975;90:148–51.

Lottanti S, Gautschi H, Sener B, Zehnder M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J* 2009;42:335–43.

Lui JN, Kuah HG, Chen NN. Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. *J Endod* 2007;33:472–5.

Lumley PJ, Walmsley AD, Walton RE, Rippin JW. Effect of precurving endosonic files on the amount of debris and smear layer remaining in curved root canals. *J Endod* 1992;18:616–9.

Lyroudia K, Samakovitis G, Pitas I, Lambrianidis T, Molyvdas I, Mikrogeorgis G. 3D reconstruction of two C-shape mandibular molars. *J Endod* 1997;23:101–4.

Machtou P. Investigations sur l'irrigation en endodontie. Thèse de doctorat en sciences odontologiques, Université Paris 7, Paris; 1980.

Machtou P. Manual dynamic activation (MDA). In: Basrani B, ed. Endodontic irrigation: chemical disinfection of the root canal system. 1<sup>st</sup> ed. Springer International Publishing Switzerland; 2015, p. 149-156.

Magnusson B, Heyden G. Autoradiographic studies of <sup>14</sup>C-chlorhexidine given orally in mice. *J Periodontal Res Suppl* 1973;12:49-54.

Manning SA. Root canal anatomy of mandibular second molars. Part I. *Int Endod J* 1990;23:34-9.

Mannocci F, Peru M, Sherriff M, Cook R, Pitt Ford TR. The isthmuses of the mesial root of mandibular molars: a micro-computed tomographic study. *Int Endod J* 2005;38:558-63.

Manzur A, Gonzalez AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. *J Endod* 2007;33:114-8.

Marending M, Paqué F, Fischer J, Zehnder M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. *J Endod* 2007;33:1325-8.

Markose G, Cotter CJ, Hislop WS. Facial atrophy following accidental subcutaneous extrusion of sodium hypochlorite. *Br Dent J* 2009;206:263-4.

Marquis VL, Dao T, Farzaneh M, Abitbol S, Friedman S. Treatment outcome in endodontics: the Toronto Study. Phase III: initial treatment. *J Endod* 2006;32:299-306.

Marshall FJ, Massler M, Dute HL. Effects of endodontic treatments on permeability of root dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1960;13:208-23.

Martin H, Cunningham WT, Norris JP, Cotton WR. Ultrasonic versus hand filing of dentin: a quantitative study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980;49:79–81.

Martin H, Cunningham WT. An evaluation of postoperative pain incidence following endosonic and conventional root canal therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;54:74–6.

Martin H, Cunningham WT. Endosonic endodontics: the ultrasonic synergistic system. *Int Dent J* 1984;34:198–203.

Mauger MJ, Schindler WG, Walker III WA. An evaluation of canal morphology at different levels of root resection in mandibular incisors. *J Endod* 1998;24:607–9.

Mayo CV, Montgomery S, del Rio C. A computerized method for evaluating root canal morphology. *J Endod* 1986;12:2–7.

McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:147–79.

McGill S, Gulabivala K, Mordan N, Ng YL. The efficacy of dynamic irrigation using a commercially available system (RinsEndo) determined by removal of a collagen 'bio-molecular film' from an ex vivo model. *Int Endod J* 2008;41:602–8.

McGurkin-Smith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A. Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA and Ca(OH)<sub>2</sub>. *J Endod* 2005;31:359–63.

Mehra P, Clancy C, Wu J. Formation of a facial hematoma during endodontic therapy. *J Am Dent Assoc* 2000;131:67–71.

Meyer W, Scheele E. Die Anatomie der Wurzelkanäle der oberen Frontzähne. Dtsch Zahnärztl 1955;10:1041-5.

Mitchell RP, Baumgartner JC, Sedgley CM. Apical extrusion of sodium hypochlorite using different root canal irrigation systems. J Endod 2011;37:1677-81.

Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. Int Dent J 2008;58:329-341.

Moller AJR, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden GUY. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. Eur J Oral Sci 1981;89:475-84.

Molven O, Olsen I, Kerekes K. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. Endod Dent Traumatol 1991;7:226-9.

Moorer WR, Wesselink PR. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. Int Endod J 1982;15:187-96.

Morgan RW, Carnes DL, Montgomery S. The solvent effects of calcium hydroxide irrigating solution on bovine pulp tissue. J Endod 1991;17:165-8.

Mott RL. Applied fluid mechanics. 5th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall; 1999. p. 1-188.

Mueller AH. Anatomy of the root canals of the incisors, cuspids and bicuspid of the permanent teeth. J Am Dent Assoc 1933;20:1361-86.

Mühlreiter E. Anatomie des menschlichen Gebisses von med. Th. E. de Jonge Cohen. Leipzig: Arthur Felix; 1870.

Munson MA, Pitt-Ford T, Chong B, Weightman A, Wade WG. Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J Dent Res* 2002;81:761-6.

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.

Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:348-81.

Nair, R. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod* 1987;13:29-39.

Naoum HJ, Love RM, Chandler NP, Herbison P. Effect of X-ray beam angulation and intraradicular contrast medium on radiographic interpretation of lower first molar root canal anatomy. *Int Endod J* 2003;36:12-9.

Nattress BR, Martin DM. Predictability of radiographic diagnosis of variations in root canal anatomy in mandibular incisor and premolar teeth. *Int Endod J* 1991;24:58-62.

Nielsen BA, Baumgartner JC. Comparison of the EndoVac system to needle irrigation of root canals. *J Endod* 2007;33:611-5.

Niewierowski RS, Scalzilli LR, Morgental RD, Figueiredo JAPD, Vier-Pelisser FV, Borba MGD, et al. Bovine pulp tissue dissolution ability of irrigants associated or not to ultrasonic agitation. *Braz Dent J* 2015;26:537-40.

Nusstein JM. Sonic and ultrasonic irrigation. In: Basrani B, ed. *Endodontic irrigation: Chemical disinfection of the root canal system*. 1<sup>st</sup> ed. Switzerland: Springer International Publishing; 2015, p. 173-198.

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

Ohara P, Torabinejad M, Kettering JD. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. *Endod Dent Traumatol* 1993;9:95-100.

Okiji T, Suda H, Kawashima N, Kaneko I, Sakurai K. Response of pulpal dendritic cells to microbial challenges across dentin. In: *Dentin/pulp complex. Proceedings of the International Conference on Dentin/Pulp Complex 2001*. Ishikawa T, Takahashi K, Maeda T, Suda H, Shimono M, Inoue T, editors. Tokyo: Quintessence Publishing Co., Ltd., p. 24-38.

Okumura T. Anatomy of the root canals. *J Am Dent Assoc* 1927;14:632-6.

Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J* 2003;36:423-32.

Ordinola-Zapata R, Versiani MA, Bramante CM. Root canal components. In: Versiani MA, Basrani B, Sousa-Neto MD, eds. *The root canal anatomy in permanent dentition*. 1<sup>st</sup> ed. Springer International Publishing AG;2019,p.121-172.

Oreadi D, Hendi J, Papageorge MB. A clinico- pathologic correlation. *J Mass Dent Soc* 2010;59:44-6.



Ørstavik D, Kerekes K, Molven O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. *Int Endod J* 1991;24:1–7.

Thibault PK, Wlodarczyk J, Wenck A. A double-blind randomized clinical trial on the effectiveness of a daily glycolic acid 5% formulation in the treatment of photoaging. *Dermatologic Surg* 1998;24:573–8.

Paiva SS, Siqueira JF Jr, Rôças IN, Carmo FL, Leite DC, Ferreira DC, et al. Clinical antimicrobial efficacy of NiTi rotary instrumentation with NaOCl irrigation, final rinse with chlorhexidine and interappointment medication: a molecular study. *Int Endod J* 2013;46:225–33.

Pantera EA. The balanced force technique. Handout– AAE Meeting Honolulu; Apr 1994.

Pappalardo G, Tanner F, Roussianos D, Pannatier A. Efficacy and stability of two chlorine-containing antiseptics. *Drugs Exp Clin Res* 1986;12:905–9.

Paqué F, Rechenberg DK, Zehnder M. Reduction of hard-tissue debris accumulation during rotary root canal instrumentation by etidronic acid in a sodium hypochlorite irrigant. *J Endod* 2012;5:692–5.

Paquette L, Legner M, Fillery ED, Friedman S. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication in vivo. *J Endod* 2007;33:788–95.

Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic effect of NaOCl on vital tissue. *J Endod* 1985;11:525–8.

Pataky L, Ivanyi I, Grigar A, Fazekas A. Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: an in vitro comparative study. *J Endod* 2002;28:603–5.

Peck BW, Workeneh B, Kadikoy H, Abdellatif A. Sodium hypochlorite-induced acute kidney injury. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2014;25:381–4.

Pécora JD, Guimaraes LF, Savioli RN. Surface tension of several drugs used in Endodontics. *Braz Dent J* 1991;2:123–7.

Pécora JD, Saquy PC, de Souza JE, Sousa-Neto MD. Endodontic treatment of a maxillary lateral incisor presenting dens invaginatus and transposition to the region of the canine—case report. *Braz Dent J* 1991;2:5–8.

Pécora JD, Sousa-Neto MD, Estrela C. Soluções irrigadoras auxiliares do preparo do canal radicular. In: *Endodontia - Princípios biológicos e mecânicos*. Estrela C, Figueiredo JAP. Eds. São Paulo: Artes Médicas; 1999, p. 552-69.

Peiris R, Takahashi M, Sasaki K, Kanazawa E. Root and canal morphology of permanent mandibular molars in a Sri Lankan population. *Odontology* 2007; 95:16–23.

Pelka M, Petschelt A. Permanent mimic musculature and nerve damage caused by sodium hypochlorite: a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106:80–3.

Peters OA, Laib A, Rügsegger P, Barbakow F. Three-dimensional analysis of root canal geometry by high resolution computed tomography. *J Dent Res* 2000;79:1405-09.

Peters OA, Laib A, Gohring TN, Barbakow F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *J Endod* 2001;27:1-6.

Peters OA, Schönenberger K, Laib A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. *Int Endod J* 2001;34:221–30.

Peters OA, Peters CI, Schonenberger K, Barbakaw F. ProTaper rotary root canal preparation: assessment of torque force in relation to canal anatomy. *Int Endod J* 2003;36:93-9.

Peters OA, Barbakow F, Peters CI. An analysis of endodontic treatment with three nickel-titanium rotary root canal preparation techniques. *Int Endod J* 2004;37:849-59.

Pineda F, Kuttler Y. Mesiodistal and buccolingual roentgenographic investigation of 7.275 root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972;33:101–10.

Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J* 2003;36:1-11.

Piskin B, Turkun M. Stability of various sodium hypochlorite solutions. *J Endod* 1995;21:253–5.

Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J* 2001;34:184–8.

Portenier I, Haapasalo H, Ørstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M. Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat-killed microbial whole cells. *J Endod* 2002;28:634–7.

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

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

Preiswerk G. *Leherbuch und Atlas der Zahnheilkunde mit Einschluß der Mund-Krankheiten*. Munich: J. F Lehmann; 1903.

Pugh RJ, Goerig AC, Glaser CG, Luciano WJ. A comparison of four endodontic vibratory systems. *Gen Dent* 1989;37:296–301.

Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *J Endod* 2011;37:1437–41.

Radcliffe C, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H. 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.

Ram Z. Effectiveness of root canal irrigation. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1977;44:306–11.

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

Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus Faecalis*. *J Endod* 2010;36:520-3.

Reynolds MA, Madison S, Walton RE, Krell KV, Rittman BR. An in vitro histological comparison of the step-back, sonic and ultrasonic instrumentation techniques in small, curved root canals. *J Endod* 1987;13:307-14.

Rhodes JS, Pitt Ford TR, Lynch JA, Liepins PJ, Curtis RV. A comparison of two nickel-titanium instrumentation techniques in teeth using microcomputed tomography. *Int Endod J* 2000;33:279-85.

Richman MJ. The use of ultrasonics in root canal therapy and root resection. *J Dent Med* 1957;12:12-8.

Ricucci D, Siqueira JF Jr. Apical actinomycosis as a continuum of intraradicular and extraradicular infection: case report and critical review on its involvement with treatment failure. *J Endod* 2008;34:1124-9.

Robertson D, Leeb IJ, McKee M, Brewer E. A clearing technique for the study of root canal systems. *J Endod* 1980;6:421-4.

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. Root canal microbiota of teeth with chronic apical periodontitis. *J Clin Microbiol* 2008;46:3599-606.

Rôças IN, Siqueira JF Jr. Comparison of the in vivo antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite and chlorhexidine used as root canal irrigants: a molecular microbiology study. *J Endod* 2011;37:143-50.

Rôças IN, Provenzano JC, Neves MA, Siqueira JF Jf. Disinfecting effects of rotary instrumentation with either 2.5% sodium hypochlorite or 2% chlorhexidine as the main irrigant: a randomized clinical study. *J Endod* 2016;42:943-7.

Rodrigues RCV, Zandi H, Kristoffersen AK, Enersen M, Mdala I, Orstavik D, et al. Influence of the apical preparation size and the irrigant type on bacterial reduction in root canal-treated teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2017;43:1058-63.

Rosen MJ, Kunjappu. *Surfactants and Interfacial Phenomena*. 4<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley & Sons Ltd, 2012.

Rossi-Fedele G, De Figueiredo JA. Use of a bottle warmer to increase 4% sodium hypochlorite tissue dissolutionability on bovine pulp. *Aust Endod J* 2008;34:39-42.

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

Rossi-Fedele G, Prichard JW, Steier L, de Figueiredo JAP. The effect of surface tension reduction on the clinical performance of sodium hypochlorite in endodontics. *Int Endod J* 2013;46:492-8.

Rossi-Fedele G, Steier L, Dogramaci EJ, Canullo L, Steier G, de Figueiredo JAP. Bovine pulp tissue dissolution ability of HealOzone®, Aquatine Alpha Electrolyte® and sodium hypochlorite. *Aust Endod J* 2013;39:57-61.

Ruddle CJ. Endodontic disinfection: tsunami irrigation. *Saudi Endod J* 2015;5:1-12.

Ruddle CJ. Microbrush for endodontic use. Washington, DC: United States Patent 6,179,617; 2001.

Rutala WA, Cole EC, Thomann CA, Weber DJ. Stability and bactericidal activity of chlorine solutions. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998;19:323-7.

Kim S, Won Y. The effect of glycolic acid on cultured human skin fibroblasts: cell proliferative effect and increased collagen synthesis. *J Dermatol* 1998;25:85-9.

Sabala CL, Powell SE. Sodium hypochlorite injection into periapical tissues. *J Endod* 1989;15:490-2.

Sabins RA, Johnson JD, Hellstein JW. A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar root canals. *J Endod* 2003;29:674-8.

Safavi KE, Dowden WE, Introcasco JH, Langeland K. A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. *J Endod* 1985;11:454-6.

Saito D, de Toledo Leonardo R, Rodrigues JLM, Tsai SM, Hofling JF, et al. Identification of bacteria in endodontic infections by sequence analysis of 16S rDNA clone libraries. *J Med Microbiol* 2006; 55:101-7.

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

Salehrabi R, Rotstein I. Endodontic treatment outcomes in a large patient population in the USA: an epidemiological study. *J Endod* 2004;30:846–50.

Salzgeber RM, Brilliant JD. An in vivo evaluation of the penetration of an irrigating solution in root canals. *J Endod* 1977;3:394-8.

Santos TC. Estudo “in vitro” do efeito do aumento da temperatura nas soluções de hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino. [Master’s thesis]. Ribeirão Preto: University of São Paulo;1999,108 p.

Sayin TC, Cehreli ZC, Deniz D, Akcay A, Tuncel B, Dagli F, et al. Time-dependent decalcifying effects of endodontic irrigants with antibacterial properties. *J Endod* 2009;35:280–3.

Schäfer E, Diez C, Hoppe W, Tepel J. Roentgenographic investigation of frequency and degree of canal curvatures in human permanent teeth. *J Endod* 2002;28:211–6.

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

Schilder, H. Vertical compaction of warm gutta percha. In Gerstein H. ed. *Technics in clinical endodontics*. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1983, p. 76-98.

Schoeffel GJ. The EndoVac method of endodontic irrigation: part 2-efficacy. *Dent Today* 2008;27:82-7.

Sedgley CM, Nagel AC, Hall D, Applegate B. Influence of irrigant needle depth in removing bacteria inoculated into instrumented root canals using real-time imaging in vitro. *Int Endod J* 2005;38:97–104.



Senia ES, Marshall FJ, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971;31:96-103.

Sert S, Aslanalp V, Tanalp J. Investigation of the root canal configurations of mandibular permanent teeth in the Turkish population. *Int Endod J* 2004;37:494-9.

Sert S, Bayirli GS. Evaluation of the root canal configurations of the mandibular and maxillary permanent teeth by gender in the Turkish population. *J Endod* 2004;30:391-8.

Setlock J, Fayad MI, BeGole E, Bruzick M. Evaluation of canal cleanliness and smear layer removal after the use of the Quantec-E irrigation system and syringe: a comparative scanning electron microscope study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;96:614-7.

Shen Y, Gao Y, Lin J, Ma J, Wang Z, Haapasalo M. Research on irrigation: methods and models. In: Basrani B, ed. *Endodontic irrigation: chemical disinfection of the root canal system*. 1<sup>st</sup> ed. Springer International Publishing Switzerland; 2015, p. 65-98.

Shrestha A, Kishen A. The effect of tissue inhibitors on the antibacterial activity of chitosan nanoparticles and photodynamic therapy. *J Endod* 2012;38:1275-8.

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

Siqueira J, de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod* 1997;23:167-9.

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

Siqueira Junior JF, Lima KC, Magalhaes FA, Lopes HP, de Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod* 1999;25:332-5.

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 Endod* 2000;26:331-4.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93:174-8.

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. Periapical actinomycosis and infection with *Propionibacterium propionicum*. *Endod Top* 2003;6:78-95.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Rosado SA. Investigation of bacterial communities associated with asymptomatic and symptomatic endodontic infections by denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting approach. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19:363-70.

Siqueira JF Jr, Guimaraes-Pinto T, Rôças IN. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. *J Endod* 2007;33:800–5.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Paiva SS, Guimaraes-Pinto T, Magalhaes KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104:122-30.

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

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107:870–8.

Siqueira JF Jr, Lopes HP. Chemomechanical preparation. In: Siqueira Jr JF, editor. *Treatment of endodontic infections*. London: Quintessence Publishing; 2011, p. 236–84.

Siqueira Jr JF, Alves FRF, Versiani MA, Roças IN, Almeida BM, Neves MAS, et al. Correlative bacteriologic and micro-computed tomographic analysis of mandibular molar mesial canals prepared by Self-Adjusting File, Reciproc, and Twisted File systems. *J Endod* 2013;39:1044–50.

Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity and antimicrobial efficacy. *J Endod* 2005;31:669-71.

Sjögren U, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of ultrasonic root canal instrumentation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987;63:366–70.

Sjögren U, Figdor D, Spångberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J* 1991;24:119-25.

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.

Skidmore AE, Bjorndal AM. Root canal morphology of the human mandibular first molar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971;32:778-84.

Smith RM, Martell AE. *Critical stability constants*. New York: Plenum Press; 1976.

Somma F, Leoni D, Plotino G, Grande NM, Plasschaert A. Root canal morphology of the mesiobuccal root of maxillary first molars: a micro-computed tomographic analysis. *Int Endod J* 2009;42:165–74.

Souza, EM, Quadros JDRP, Silva EJ, De Deus G, Belladonna FG, Maia-Filho EM. Volume and/or time of NaOCl influences the fracture strength of endodontically treated bovine teeth. *Braz Dent J* 2019;30:31-5.

Spalteholz W. *Über das durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen präparaten und seine theoretischen bedingungen*. Leipzig: F. Hirzel; 1914.

Spångberg L, Engström B, Langeland K. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973;36:856-71.

Spanó JCE, Barbin EL, Santos TC, Guimarães LF, Pécora JD. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. *Braz Dent J* 2001;12:154-7.

Stamos DE, Sadeghi EM, Haasch GC, Gerstein H. An in vitro comparison study to quantitate the debridement ability of hand, sonic, and ultrasonic instrumentation. *J Endod* 1987;13:434-40.

Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9:498-521.

Steenbecker O, Garone W, Da Souza C, Uribe J, Nuñez N, Priotto E. Principios y bases de los biomateriales en operatoria dental estética adhesiva. Valparaíso: Ed. Universidad de Valparaíso; 2006.

Stewart PS. Biophysics of biofilm infection. *Pathog Dis* 2014;70:212-8.

Stewart PS. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Int J Med Microbiol* 2002;292:107-13.

Stojicic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *J Endod* 2010;36:1558-62.

Stuart KG, Miller CH, Brown CE, Newton CW. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. *Oral Surg* 1991;72:101-77.

Sudqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Umea, Sweden: University of Umea;1976. Doctoral Dissertation.

Svensater G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Top* 2004;9:27–36.

Tachibana H, Matsumoto K. Applicability of X-ray computerized tomography in endodontics. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:16–20.

Taneja S, Mishra N, Malik S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: an in vitro study. *J Conserv Dent* 2014;17:541-5.

Tanomaru-Filho M, Leonardo MR, Silva LAB, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J* 2002;35:735-9.

Tartari BM, Guimarães LS, Amoras MA, Duarte PA, Silva e Souza PAR, Bramante CM. Etidronate causes minimal changes in the sodium hypochlorite ability to dissolve organic matter. *Int Endod J* 2015;48:399–404.

Tartari T, Junior D, Pereira A, Júnior S, Carrera JO, Klautau EB. Etidronate from medicine to endodontics: effects of different irrigation regimes on root dentin roughness. *J Appl Oral Sci* 2013;21:409–15.

Tartari T, Bachmann L, Maliza AGA, Andrade FB, Duarte MAH, Bramante CM. Tissue dissolution and modifications in dentin composition by different sodium hypochlorite concentrations. *J Appl Oral Sci* 2016;24:291-8.

Tasman F, Çehreli ZC, Ogan C, Etikan I. Surface tension of root canal irrigants. *J Endod* 2000;26:586–7.

Tay FR, Gu LS, Schoeffel GJ, Wimmer C, Susin L, Zhang K et al. Effect of vapor lock on root canal debridement by using a side-vented needle for positive-pressure irrigant delivery. *J Endod* 2010;36:745–50.

The SD. The solvent action of sodium hypochlorite on fixed and unfixed necrotic tissue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979;47:558–61.

Tilton JN. Fluid and particle dynamics. In: Perry RH, Green DW, Maloney JO, editors. *Perry's chemical engineer's handbook*. 7th ed. New York: McGraw- Hill; 1999, p.1–50.

Torabinejad M, Kutsenko D, Machnick TK, Ismail A, Newton CW. Levels of evidence for the outcome of nonsurgical endodontic treatment. *J Endod* 2005;31:637-46.

Trepagnier CM, Madden RM, Lazzari EP. Quantitative study of sodium hypochlorite as an in vitro endodontic irrigant. *J Endod* 1977;3:194–6.

Tronstad L, Barnett F, Schwartzben L, Frasca P. Effectiveness and safety of a sonic vibratory endodontic instrument. *Endod Dent Traumatol* 1985;1:69–76.

Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:73-7.

Tronstad L. *Clinical endodontics*. 3rd ed. Stuttgart: Thieme; 2009.

Trope M, Debelian G. Endodontic treatment of apical periodontitis. In: Orstavik D, Pitt Ford T, eds. *Essential endodontology*. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Blackwell Munksgaard Ltd;2008, p. 347-80.

Trope M, Elfenbein L, Tronstad L. Mandibular premolars with more than one root canal in different race groups. *J Endod* 1986;12:343-5.

Ulusoy ÖI, Savur IG, Alaçam T, Çelik B. The effectiveness of various irrigation protocols on organic tissue removal from simulated internal resorption defects. *Int Endod J* 2018;51:1030-6.

Van der Sluis LW, Wu MK, Wesselink PR. A comparison between a smooth wire and a K-file in removing artificially placed dentine debris from root canals in resin blocks during ultrasonic irrigation. *Int Endod J* 2005;38:593-6.

Van der Sluis LW, Gambarini G, Wu MK, Wesselink PR. The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J* 2006;39:472-6.

Van der Sluis LW, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *Int Endod J* 2007;40:415-26.

Van der Sluis LW. Ultrasound in endodontics. *Endo* 2007;1:29-36.

Van der Sluis LW, Voogels MPJM, Verhaagen B, Macedo R, Wesselink PR. Study on the influence of refreshment/activation cycles and irrigants on mechanical cleaning efficiency during ultrasonic activation of the irrigant. *J Endod* 2010;36:737-40.

Velvart P. Bestandigkeit von natriumhypochlorit zur wurzelkanalspülung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1987;97:1509-12.



Venturi M, Prati C, Capelli G, Falconi M, Breschi L. A preliminary analysis of the morphology of lateral canals after root canal filling using a tooth-clearing technique. *Int Endod J* 2003;36:54–63.

Vera J, Arias A, Romero M. Effect of maintaining apical patency on irrigant penetration into the apical third of root canals when using passive ultrasonic irrigation: an in vivo study. *J Endod* 2011;37:1276–8.

Vera J, Arias A, Romero M. Dynamic movement of intracanal gas bubbles during cleaning and shaping procedures: the effect of maintaining apical patency on their presence in the middle and cervical thirds of human root canals-an in vivo study. *J Endod* 2012;38:200–3.

Vera J, Hernández EM, Romero M, Arias A, van der Sluis LW. Effect of maintaining apical patency on irrigant penetration into the apical two millimeters of large root canals: an in vivo study. *J Endod* 2012;38:1340–3.

Verhaagen B, Boutsoukis C, Heijnen GL, van der Sluis LWM, Versluis M. Role of the confinement of a root canal on jet impingement during endodontic irrigation. *Exp Fluids* 2012;53:1841–53.

Versiani MA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Flat-oval root canal preparation with self-adjusting file instrument: a micro-computed tomography study. *J Endod* 2011;37:1002–7.

Versiani MA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. The anatomy of two-rooted mandibular canines determined using micro-computed tomography. *Int Endod J* 2011;44:682–7.

Versiani MA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Root and root canal morphology of four-rooted maxillary second molars: a micro-computed tomography study. *J Endod* 2012;38:977-82.

Versiani MA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Microcomputed tomography analysis of the root canal morphology of single-rooted mandibular canines. *Int Endod J* 2013;46:800-7.

Versiani MA, De-Deus G, Vera J, Souza E, Steier L, Pécora JD, et al. 3D mapping of the irrigated areas of the root canal space using micro computed tomography. *Clin Oral Investig* 2015;19:859-866.

Versiani MA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Update in root canal anatomy of permanent teeth using microcomputed tomography. In: Basrani B, ed. *Endodontic irrigation: chemical disinfection of the root canal system*. 1<sup>st</sup> ed. Springer International Publishing Switzerland; 2015, p.15-44.

Vertucci FJ, Williams RG. Furcation canals in the human mandibular first molar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974;38:308-14.

Vertucci FJ, Seelig A, Gillis R. Root canal morphology of the human maxillary second premolar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974;38:456-64.

Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984;58:589-99.

Vertucci FJ, Haddix EJ. Morfología del diente y preparación de la cavidad de acceso. En: Hargreaves KH, Cohen S, Berman LH, editores. *Cohen Vias de la Pulpa*. 10ma ed. Barcelona: Elsevier España; 2011, p. 136-222.

Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza- Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97:79-84.

Vianna ME, Horz HP, Gomes BP, Conrads G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J* 2006;39:484-92.

Vivan RR, Bortolo MV, Duarte MA, Moraes IG, Tanomaru-Filho M, Bramante CM. Scanning electron microscopy analysis of RinsEndo system and conventional irrigation for debris removal. *Braz Dent J* 2010;21:305-9.

Walker A. A definitive and dependable therapy for pulpless teeth. *J Am Dent Assoc* 1936;23:1418- 24.

Walker RT. Root form and canal anatomy of maxillary first premolars in a southern Chinese population. *Dent Traumatol* 1987;3:130-4.

Walker RT. Root form and canal anatomy of mandibular first molars in a southern Chinese population. *Dent Traumatol* 1988;4:19-22.

Walker TL, del Rio CE. Histological evaluation of ultrasonic and sonic instrumentation of curved root canals. *J Endod* 1989;15:49-59.

Walmsley AD, Lumley PJ, Laird WR. Oscillatory pattern of sonically powered endodontic files. *Int Endod J* 1989;22:125-32.

Walmsley AD, Murgel C, Krell KV. Canal markings produced by endosonic instruments. *Endod Dent Traumatol* 1991;7:84-9.

Walters MJ, Baumgartner JC, Marshall JG. Efficacy of irrigation with rotary instrumentation. *J Endod* 2002;28:837–9.

Waltimo T, Ørstavik D, Siren EK, Haapasalo M. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J* 1999;32:421–9.

Walton RE, Vertucci FJ. Internal anatomy. In: Torabinejad M, Walton RE, eds. *Endodontics: principles and practice*. 4th ed. St Louis: Saunders/Elsevier; 2009, p.216–29.

Wang S, Chung M, Cheng J, Chen C, Shieh Y. Sodium hypochlorite accidentally extruded beyond the apical foramen. *J Med Sci* 2010;30:61–5.

Wang N, Knight K, Dao T, Friedman S. Treatment outcome in endodontics—The Toronto Study. Phases I and II: apical surgery. *J Endod* 2004;30:751-61.

Wasti F, Shearer AC, Wilson NH. Root canal systems of the mandibular and maxillary first permanent molar teeth of South Asian Pakistanis. *Int Endod J* 2001;34:263-6.

Weine FS, Healey HJ, Gerstein H, Evanson L. Canal configuration in the mesiobuccal root of the maxillary first molar and its endodontic significance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1969;28:419–25.

Weine, FS. *Endodontic therapy*. 3rd ed. St. Louis: The C.V. Mosby company;1982, p. 1- 29.

Weise M, Roggendorf MJ, Ebert J, Petschelt A, Frankenberger R. Four methods for cleaning simulated lateral extensions of curved root canals: a SEM evaluation. *Int Endod J* 2007;40:991–2.

Weller RN, Brady JM, Bernier WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. *J Endod* 1980;6:740-3.

Weng XL, Yu SB, Zhao SL, Wang HG, Mu T, Tang RY, et al. Root canal morphology of permanent maxillary teeth in the Han nationality in Chinese Guanzhong area: a new modified root canal staining technique. *J Endod* 2009;35:651-6.

White FM. *Fluid mechanics*. 4th ed. Boston: McGraw-Hill; 1999.

Whittaker HA, Mohler BM. The sterilization of milk bottles with calcium hypochlorite. *Am J Public Health* 1912;2:282-7.

Willershausen I, Wolf TG, Schmidtman I, Berger C, Ehlers V, Willershausen B, et al. Survey of root canal irrigating solutions used in dental practices within Germany. *Int Endod J* 2015;48:654-60.

Winrow MJ. Metabolic studies with radiolabelled chlorhexidine in animals and man. *J Periodontal Res Suppl* 1973;12:45-8.

Witton R, Henthorn K, Ethunandan M, Harmer S, Brennan P. Neurological complications following extrusion of sodium hypochlorite solution during root canal treatment. *Int Endod J* 2005;38:843-48.

Wright PP, Scott S, Kahler B, Walsh LJ. Organic tissue dissolution in clodronate and etidronate mixtures with sodium hypochlorite. *J Endod* 2020;46:289-94.

Wu MK, R'Oris A, Barkis D, Wesselink PR. Prevalence and extent of long oval canals in the apical third. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;89:739-43.

Wu MK, Wesselink PR. A primary observation on the preparation and obturation of oval canals. *Int Endod J* 2001;34:137-41.

Wu MK, Van der Sluis LW, Wesselink PR. A preliminary study of the percentage of gutta-percha-filled area in the apical canal filled with vertically compacted warm gutta-percha. *Int Endod J* 2002;35:527-35.

Wu MK, Dummer PM, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J* 2006;39:343-56.

Yana Y. An in vivo comparative study of the penetration of sodium hypochlorite in root canal systems during cleaning and shaping procedures using the B.U. technique and sonic instrumentation. Master's thesis, Boston University, Boston; 1989.

Zairi A, Lambrianidis T. Accidental extrusion of sodium hypochlorite into the maxillary sinus. *Quintessence Int* 2008;39:745-8.

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

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

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

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

Zehnder M, Paqué F. Disinfection of the root canal system during root canal retreatment. *Endod Top* 2008;19:58–73.





## **X - ANEXOS**



## X - ANEXOS

### 10.1. DOCUMENTACIÓN ESTADÍSTICA

A continuación, exponemos las tablas que muestran el análisis estadístico de nuestro trabajo. Lo primero que vamos a hacer es un análisis descriptivo de la variable cuantitativa continua peso en cada uno de los momentos para ver su distribución. Evaluamos la distribución normal de la variable. Para ello debemos estudiar si el valor de la media y la mediana coinciden, y también evaluamos como es la dispersión de la variable medida mediante la desviación estándar (DE) o desviación típica en relación con la media mediante el cálculo del CV  $((DE/media)*100)$ . Si este valor es inferior al 50% podemos afirmar que la variabilidad de la variable no es muy grande y nos sugiere que dicha variable puede presentar una distribución normal.

Observando los valores descriptivos de la tabla (se muestra el valor de la media, DE, mínimo, máximo, percentiles 25, mediana, percentil 50 y percentil 75) vemos como la media y la mediana están muy próximas, y que la DE en relación con el valor de la media es inferior al 50%. Por lo tanto, esto nos sugiere que la variable sigue una distribución normal y por lo tanto la podemos describir con la media y la DE. También podemos utilizar test paramétricos para su comparación (estas pruebas requieren que la variable de resultado siga una distribución normal). Hemos realizado una valoración gráfica de las variables y también se ajusta a una distribución normal.

Ahora lo que vamos a hacer es evaluar como es la evolución en el tiempo de la variable peso dentro de cada uno de los grupos de estudio. Para ello vamos a utilizar el análisis de la varianza (ANOVA) para medidas repetidas. Dentro de este análisis se pueden realizar diferentes tipos de comparación, la comparación que consideramos es de interés para el objetivo del estudio es comparar el peso en cada uno de los momentos con respecto al momento basal.

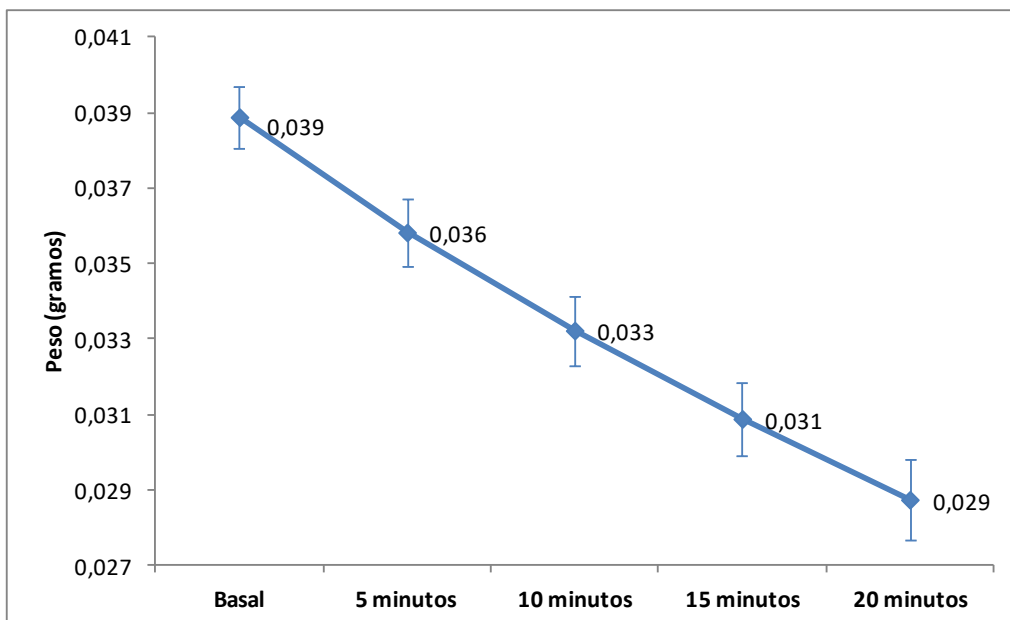
En la tabla siguiente se muestra la media junto a la DE de la media de peso dentro del grupo 1.

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Peso Inicial	,038886	,0024347	35
Peso 5 minutos	,035829	,0025493	35
Peso 10 minutos	,033229	,0026688	35
Peso 15 minutos	,030886	,0028571	35
Peso 20 minutos	,028743	,0030711	35

Estadísticas descriptivas del grupo 1 (NaOCl).

Desde un punto de vista descriptivo observamos que la media sufre un descenso desde el momento basal hasta el momento de 20 minutos. Estos datos se pueden mostrar en una tabla o en una gráfica como la que mostramos a continuación. Se trata de una gráfica de líneas con barras de error. Los puntos representan el valor de la media en cada uno de los momentos y las barras (superior e inferior) los intervalos de confianza al 95% (IC 95%) de la media del peso en cada uno de los momentos. Los IC al 95% es un procedimiento de la estadística inferencial en estimación por intervalos.



Evaluación en el tiempo de las medias del peso en grupo 1 (NaOCl).

En el gráfico se observa claramente el descenso que se produce del peso en el tiempo. Como observamos que el comportamiento de ese descenso es lineal, vamos a calcular la pendiente de esa recta (información a aportar desde el punto de vista descriptivo). Para ello, realizamos una regresión lineal simple donde introducimos

la variable peso como variable dependiente y la variable momento como variable independiente. El valor de dicho coeficiente junto con su IC al 95% lo podemos observar en la siguiente tabla.

**Coeficientes<sup>a</sup>**

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Intervalo de confianza para B al 95%	
	B	Error típ.	Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	,041	,000	,040	,042
Momento	<b>-,003</b>	,000	<b>-,003</b>	<b>-,002</b>

a. Variable dependiente: Peso Inicial

Coeficientes del grupo 1 (NaOCl).

El coeficiente  $\beta$  del modelo ( $\beta=-0.03$ ) nos indica que por cada 5 minutos de aumento de tiempo se produce un descenso medio en el peso en 0.003 gramos. Puedes añadir dicha información junto con el IC al 95% del coeficiente  $\beta$  de la recta de regresión. Ahora lo que vamos a hacer es comparar el valor del peso en cada uno de los momentos con el peso basal a través del ANOVA de medidas repetidas. En la siguiente tabla se muestra el nivel de significación estadística (valor de la p) de la comparación de cada uno de los momentos con el momento basal. En la tabla el nivel 1 corresponde con el momento basal, el nivel 2 con peso a los 5 minutos y así sucesivamente hasta nivel 5 (peso a los 20 minutos). Como podemos observar se compara el nivel del peso siempre con el nivel 1 que es el basal. De esta forma, observamos en todas las comparaciones que en cada uno de los momentos se produce una disminución significativa (recordemos que para que el valor sea estadísticamente significativo el valor de la p debe ser  $< 0.05$ , en este caso el valor es 0.000, no es que sea "0" es que sólo me muestra tres decimales, en este caso se suele poner como  $p<0.001$ ).

**Pruebas de contrastes intra-sujetos**

Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,000	,000	348,805	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,001	,001	501,858	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,002	,002	705,185	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,004	,004	783,336	,000
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	3,19E-005	9,38E-007		
	Nivel 3 - Nivel 1	7,59E-005	2,23E-006		
	Nivel 4 - Nivel 1	,000	3,18E-006		
	Nivel 5 - Nivel 1	,000	4,60E-006		

Prueba de contrastes intra-sujetos del grupo 1 (NaOCl).

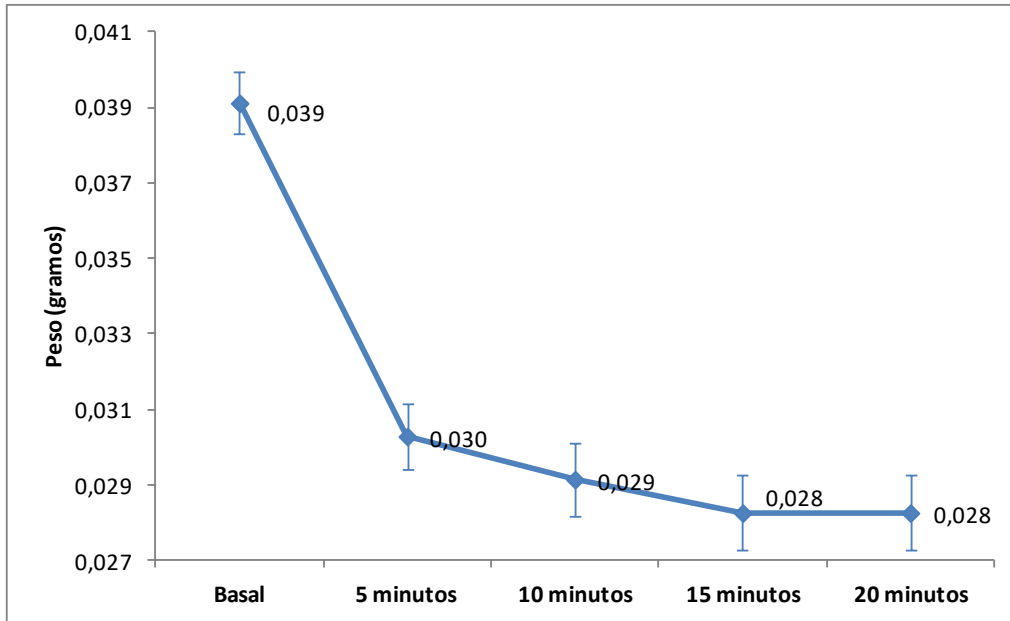
Por lo tanto, podemos concluir que dentro del grupo 1 se produce un descenso significativo del valor del peso en comparación el momento basal. Este descenso medio del peso lo cuantificamos en 0.003 gramos por cada 5 minutos.

Ahora vamos a evaluar los mismos parámetros que los anteriormente estudiados, pero ahora para el grupo 2.

**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desv. típ.	N
Peso Inicial	,039114	,0023982	35
Peso 5 minutos	,030286	,0024920	35
Peso 10 minutos	,029143	,0027562	35
Peso 15 minutos	,028257	,0029038	35
Peso 20 minutos	,028257	,0029038	35

Estadísticas descriptivas del grupo 2 (NaOCl+KB).



Evolución en el tiempo de las medias del peso en grupo 2 (NaOCl + KB).

#### Coefficientes<sup>a</sup>

Modelo	Coeficiente no estandarizados	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1	(Constante)	,038	,037	,039
	Momento	<b>-,002</b>	<b>-,003</b>	<b>-,002</b>

a. Variable dependiente: Peso Inicial

Coefficientes del grupo 2 (NaOCl + KB).



En este caso dentro del grupo 2 se observa un descenso similar al observado en el grupo 1, pero en este caso no tiene el componente lineal tan marcado como en el grupo 1. De manera descriptiva podemos afirmar que por cada aumento de 5 minutos se produce un descenso medio de 0.002 gramos.

#### Pruebas de contrastes intra-sujetos

Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,003	,003	2263,845	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,003	,003	2076,848	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,004	,004	1747,189	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,004	,004	1747,189	,000
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	4,10E-005	1,21E-006		
	Nivel 3 - Nivel 1	5,70E-005	1,68E-006		
	Nivel 4 - Nivel 1	8,03E-005	2,36E-006		
	Nivel 5 - Nivel 1	8,03E-005	2,36E-006		

Prueba de contrastes intra-sujetos del grupo 2 (NaOCl+KB).

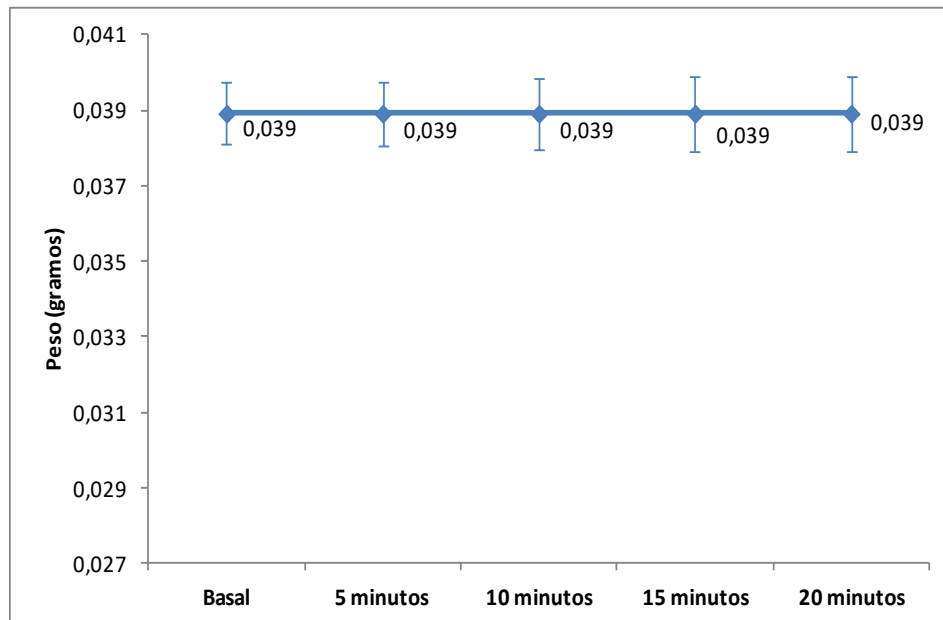
Estudiando los valores de significación estadística, observamos que comparando con el momento basal también se produce un descenso estadísticamente significativo con respecto al momento basal. Por lo tanto, podemos concluir que dentro del grupo 2 se produce un descenso significativo del valor del peso en comparación el momento basal. Este descenso medio del peso lo cuantificamos en 0.002 gramos por cada 5 minutos.

**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desv. típ.	N
Peso Inicial	,038914	,0027586	35
Peso 5 minutos	,038914	,0027586	35
Peso 10 minutos	,038914	,0027586	35
Peso 15 minutos	,038914	,0027586	35
Peso 20 minutos	,038914	,0027586	35

Estadísticas descriptivas del grupo 3 (Control).

Observando estos datos descriptivos dentro del grupo 3 no se produce ningún descenso, de echo se mantienen constantes los valores medios en cada uno de los momentos. Si nos fijamos en los datos individuales de las tablas de las muestras dentro del grupo 3, los valores no se modifican con el tiempo, es decir, son constantes. Por lo tanto, ya podemos concluir que no existe variación dentro de este grupo en el tiempo.



Evolución en el tiempo de las medias del peso en grupo 3 (Control).

**Coefficientes<sup>a</sup>**

Modelo		Coefficients no estandarizados		Intervalo de confianza para B al 95%	
		B	Error t <sub>íp.</sub>	Límite inferior	Límite superior
1	(Constante)	,039	,000	,038	,040
	Momento	<b>,000</b>	,000	<b>,000</b>	<b>,000</b>

a. Variable dependiente: Peso Inicial

Coefficients del grupo 3 (Control).

Al calcular el valor del coeficiente  $\beta$  de la recta de regresión, debido a que no existe ninguna variabilidad este coeficiente tiene un valor de 0. La pendiente de la recta tiene un valor de 0 porque la recta es perfectamente horizontal sin ninguna variación.

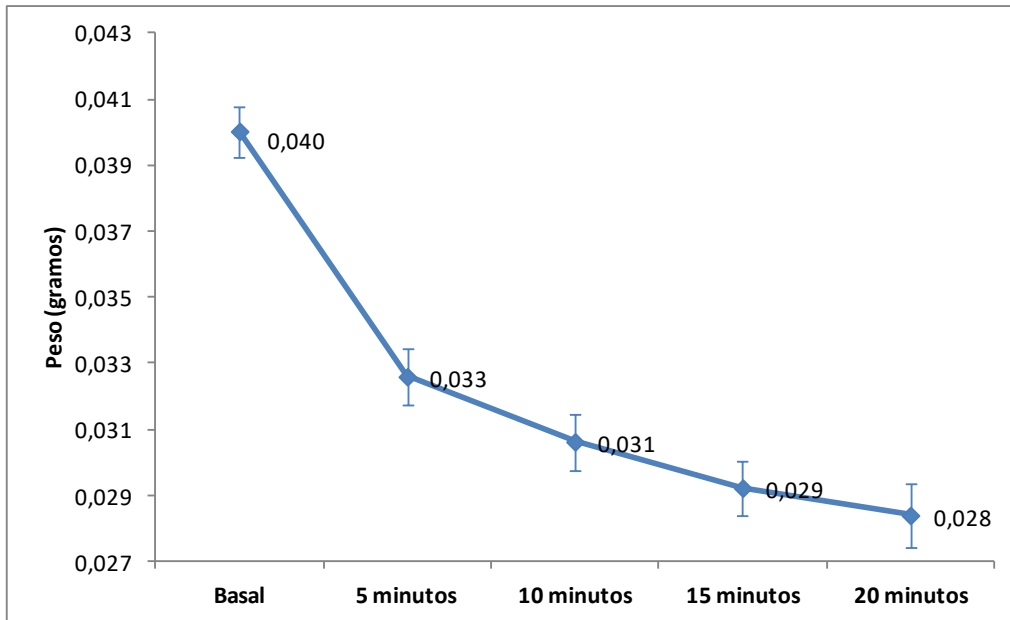
A la hora de estudiar la comparación de medias con respecto al momento basal, debido a que no existe variación ninguna, desde el punto de vista estadístico no se puede calcular. Pero la conclusión dentro de este grupo es clara. No se produce ninguna variación intra-muestra en el tiempo tras la aplicación de esta solución irrigadora.

En la tabla siguiente se muestra la media junto a la DE de la media de peso dentro del grupo 4.

#### Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Peso Inicial	35	,0350	,0440	<b>,040029</b>	,0022424
Peso 5 minutos	35	,0270	,0380	<b>,032600</b>	,0025345
Peso 10 minutos	35	,0250	,0360	<b>,030629</b>	,0024981
Peso 15 minutos	35	,0240	,0340	<b>,029229</b>	,0023525
Peso 20 minutos	35	,0220	,0340	<b>,028400</b>	,0027992
N válido (según lista)	35				

Estadísticas descriptivas del grupo 4 (KB).



Evolución en el tiempo de las medias del peso en el grupo 4 (KB).

En el gráfico se observa claramente el descenso que se produce del peso en el tiempo. Como observamos que el comportamiento de ese descenso es lineal, vamos a calcular la pendiente de esa. Para ello, realizamos una regresión lineal simple donde introducimos la variable peso como variable dependiente y la variable momento como variable independiente. El valor de dicho coeficiente junto con su IC al 95% lo podemos observar en la siguiente tabla.

Coeficientes<sup>a</sup>

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
	B	Error típ.		Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	,040	,002	,000	,032	,048
Momento	<b>-,003</b>	,001	,036	<b>-,005</b>	<b>,000</b>

a. Variable dependiente: VAR00002

Coeficientes del grupo 4 (KB).

Pruebas de contrastes intra-sujetos

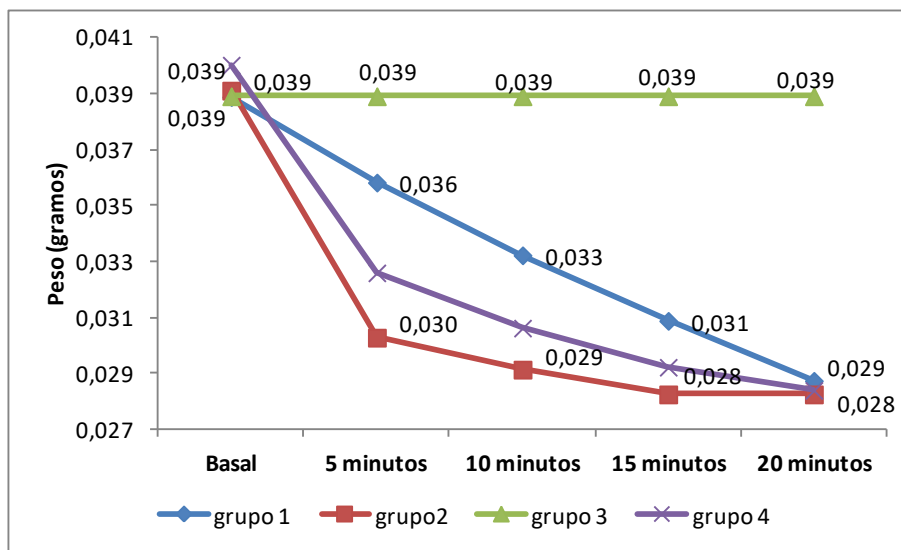
Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,002	,002	1410,061	<b>,000</b>
	Nivel 3 - Nivel 1	,003	,003	2888,692	<b>,000</b>
	Nivel 4 - Nivel 1	,004	,004	2053,278	<b>,000</b>
	Nivel 5 - Nivel 1	,005	,005	1606,408	<b>,000</b>
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	4,66E-005	1,37E-006		
	Nivel 3 - Nivel 1	3,64E-005	1,07E-006		
	Nivel 4 - Nivel 1	6,76E-005	1,99E-006		
	Nivel 5 - Nivel 1	,000	2,95E-006		

Prueba de contrastes intra-sujetos del grupo 4 (KB).

Por lo tanto, podemos concluir que dentro del grupo 4 se produce un descenso significativo del valor del peso en comparación el momento basal. Este descenso medio del peso lo cuantificamos en 0.003 gramos por cada 5 minutos.

Ahora vamos a comparar a través de ANOVA de medidas repetidas la evolución del peso entre los cuatro grupos de estudio.



Comparación de la evolución en el tiempo de las medias del peso entre los 4 grupos de estudios.

Ahora comparamos si el cambio desde el nivel basal con cada momento es diferente globalmente entre los cuatro grupos de estudio, para ello introducimos en el ANOVA de medidas repetidas el grupo como factor inter-sujeto. En la tabla observamos que globalmente existen diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos en la comparación de la evolución del peso con respecto al momento basal. Indicándonos que el descenso de los niveles medios con respecto al momento basal es diferente entre los cuatro grupos de estudio.

## Pruebas de contrastes intra-sujetos

Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,003	,003	3717,030	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,005	,005	4404,251	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,008	,008	4090,341	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,009	,009	3762,224	,000
peso * grupo	Nivel 2 - Nivel 1	,002	,001	653,819	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,002	,001	592,318	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,003	,001	487,566	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,003	,001	423,228	,000
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	,000	8,78E-007		
	Nivel 3 - Nivel 1	,000	1,24E-006		
	Nivel 4 - Nivel 1	,000	1,88E-006		
	Nivel 5 - Nivel 1	,000	2,48E-006		

Prueba de contrastes intra-sujetos entre los diferentes grupos de estudio.



Otra comparación que puede tener interés en este caso es comprobar dentro de cada momento las medias entre los cuatro grupos.

## Comparaciones por pares

peso	(I) grupo	(J) grupo	Diferencia entre medias (I-J)	Significación(a)	Intervalo de confianza al 95 % para la diferencia(a)	
			Límite inferior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
1	Grupo 1	Grupo 2	,000	<b>,699</b>	-,001	,001
		Grupo 3	-2,86E-005	<b>,961</b>	-,001	,001
		Grupo 4	-,001	<b>,055</b>	-,002	2,27E-005
	Grupo 2	Grupo 1	,000	,699	-,001	,001
		Grupo 3	,000	<b>,735</b>	-,001	,001
		Grupo 4	-,001	<b>,123</b>	-,002	,000
	Grupo 3	Grupo 1	2,86E-005	,961	-,001	,001
		Grupo 2	,000	,735	-,001	,001
		Grupo 4	-,001	<b>,061</b>	-,002	5,13E-005
	Grupo 4	Grupo 1	,001	,055	-2,27E-005	,002
		Grupo 2	,001	,123	,000	,002
		Grupo 3	,001	,061	-5,13E-005	,002
2	Grupo 1	Grupo 2	,006(*)	<b>,000</b>	,004	,007
		Grupo 3	-,003(*)	<b>,000</b>	-,004	-,002
		Grupo 4	,003(*)	<b>,000</b>	,002	,004
	Grupo 2	Grupo 1	-,006(*)	,000	-,007	-,004
		Grupo 3	-,009(*)	<b>,000</b>	-,010	-,007
		Grupo 4	-,002(*)	<b>,000</b>	-,004	-,001
	Grupo 3	Grupo 1	,003(*)	,000	,002	,004
		Grupo 2	,009(*)	,000	,007	,010
		Grupo 4	,006(*)	<b>,000</b>	,005	,008
	Grupo 4	Grupo 1	-,003(*)	,000	-,004	-,002
		Grupo 2	,002(*)	,000	,001	,004

3	Grupo 1	Grupo 3	-,006(*)	,000	-,008	-,005
		Grupo 2	,004(*)	<b>,000</b>	,003	,005
		Grupo 3	-,006(*)	<b>,000</b>	-,007	-,004
	Grupo 2	Grupo 4	,003(*)	<b>,000</b>	,001	,004
		Grupo 1	-,004(*)	,000	-,005	-,003
		Grupo 3	-,010(*)	<b>,000</b>	-,011	-,009
	Grupo 3	Grupo 4	-,001(*)	<b>,022</b>	-,003	,000
		Grupo 1	,006(*)	,000	,004	,007
		Grupo 2	,010(*)	,000	,009	,011
	Grupo 4	Grupo 4	,008(*)	<b>,000</b>	,007	,010
		Grupo 1	-,003(*)	,000	-,004	-,001
		Grupo 2	,001(*)	,022	,000	,003
4	Grupo 1	Grupo 3	-,008(*)	,000	-,010	-,007
		Grupo 2	,003(*)	<b>,000</b>	,001	,004
		Grupo 3	-,008(*)	<b>,000</b>	-,009	-,007
	Grupo 2	Grupo 4	,002(*)	<b>,012</b>	,000	,003
		Grupo 1	-,003(*)	,000	-,004	-,001
		Grupo 3	-,011(*)	<b>,000</b>	-,012	-,009
	Grupo 3	Grupo 4	-,001	<b>,138</b>	-,002	,000
		Grupo 1	,008(*)	,000	,007	,009
		Grupo 2	,011(*)	,000	,009	,012
	Grupo 4	Grupo 4	,010(*)	<b>,000</b>	,008	,011
		Grupo 1	-,002(*)	,012	-,003	,000
		Grupo 2	,001	,138	,000	,002
5	Grupo 1	Grupo 3	-,010(*)	,000	-,011	-,008
		Grupo 2	,000	<b>,483</b>	-,001	,002
		Grupo 3	-,010(*)	<b>,000</b>	-,012	-,009
	Grupo 2	Grupo 4	,000	<b>,620</b>	-,001	,002
		Grupo 1	,000	,483	-,002	,001
		Grupo 3	-,011(*)	<b>,000</b>	-,012	-,009
	Grupo 3	Grupo 4	,000	<b>,836</b>	-,002	,001
		Grupo 1	,010(*)	,000	,009	,012
		Grupo 2	,011(*)	,000	,009	,012
	Grupo 4	Grupo 4	,011(*)	<b>,000</b>	,009	,012
		Grupo 1	,000	,620	-,002	,001
		Grupo 2	,000	,836	-,001	,002
		Grupo 3	-,011(*)	,000	-,012	-,009

En la tabla observamos (marcado en color rojo) el valor de “p” entre los grupos de estudio en cada uno de los momentos. Sólo están marcadas en color rojo las comparaciones que no se repiten.

Ahora vamos a comparar la evolución de los grupos en cada momento del tiempo con respecto al momento basal entre los grupos 1 y 4.

#### Factores inter-sujetos

		Etiqueta del valor	N
grupo	1	Grupo 1	35
	4	Grupo 4	35

#### Pruebas de contrastes intra-sujetos

Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,002	,002	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,004	,004	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,006	,006	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,008	,008	,000
peso * grupo	Nivel 2 - Nivel 1	,000	,000	<b>,000</b>
	Nivel 3 - Nivel 1	,000	,000	<b>,000</b>
	Nivel 4 - Nivel 1	,000	,000	<b>,000</b>
	Nivel 5 - Nivel 1	3,86E-005	3,86E-005	<b>,002</b>
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	7,85E-005	1,15E-006	
	Nivel 3 - Nivel 1	,000	1,65E-006	
	Nivel 4 - Nivel 1	,000	2,58E-006	
	Nivel 5 - Nivel 1	,000	3,77E-006	

Observamos que el descenso que se produce desde el momento basal a los momentos 5, 10 y 15 minutos es estadísticamente significativo entre los grupos 1 y 2 ( $p < 0.001$  en los 3 casos) presentando un mayor descenso el grupo 2. El cambio desde el momento basal al nivel de 20 minutos no es diferente entre los dos grupos ( $p = 0.114$ ). Esto nos indica que la evolución en el peso es diferente entre los grupos 1 y 2 (siendo más acentuado en el grupo 2), con respecto al momento basal, a los 5, 10 y 15 minutos; y que en el momento 20 minutos los grupos llegan a un nivel medio de peso similar.

A continuación, vamos a comparar la evolución de los grupos en cada momento del tiempo con respecto al momento basal entre los grupos 4 y 2.

## Factores inter-sujetos

	Etiqueta del valor	N
grupo 2	Grupo 2	35
4	Grupo 4	35

## Pruebas de contrastes intra-sujetos

Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	F	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,005	3592,648	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,007	4782,514	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,008	3774,184	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,009	3334,159	,000
peso * grupo	Nivel 2 - Nivel 1	3,43E-005	26,643	<b>,000</b>
	Nivel 3 - Nivel 1	5,71E-006	4,162	<b>,045</b>
	Nivel 4 - Nivel 1	5,71E-008	,026	<b>,872</b>
	Nivel 5 - Nivel 1	1,04E-005	3,924	<b>,052</b>
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	8,75E-005		
	Nivel 3 - Nivel 1	9,34E-005		
	Nivel 4 - Nivel 1	,000		
	Nivel 5 - Nivel 1	,000		

Acto seguido, vamos a comparar la evolución de los grupos en cada momento del tiempo con respecto al momento basal entre los grupos 4 y 3.

#### Factores inter-sujetos

	Etiqueta del valor	N
grupo 3	Grupo 3	35
4	Grupo 4	35

#### Pruebas de contrastes intra-sujetos

Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,001	,001	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,002	,002	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,002	,002	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,002	,002	,000
peso * grupo	Nivel 2 - Nivel 1	,001	,001	<b>,000</b>
	Nivel 3 - Nivel 1	,002	,002	<b>,000</b>
	Nivel 4 - Nivel 1	,002	,002	<b>,000</b>
	Nivel 5 - Nivel 1	,002	,002	<b>,000</b>
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	4,66E-005	6,85E-007	
	Nivel 3 - Nivel 1	3,64E-005	5,35E-007	
	Nivel 4 - Nivel 1	6,76E-005	9,94E-007	
	Nivel 5 - Nivel 1	,000	1,47E-006	

Ahora vamos a comparar la evolución de los grupos en cada momento del tiempo con respecto al momento basal entre los grupos 1 y 2.

#### Pruebas de contrastes intra-sujetos

Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,002	,002	2307,413	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,004	,004	2187,765	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,006	,006	2247,405	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,008	,008	2218,315	,000
peso * grupo	Nivel 2 - Nivel 1	,001	,001	544,053	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,000	,000	166,717	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,000	,000	51,593	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	8,93E-006	8,93E-006	2,566	,114
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	7,29E-005	1,07E-006		
	Nivel 3 - Nivel 1	,000	1,95E-006		
	Nivel 4 - Nivel 1	,000	2,77E-006		
	Nivel 5 - Nivel 1	,000	3,48E-006		

Observamos que el descenso que se produce desde el momento basal a los momentos 5, 10 y 15 minutos es estadísticamente significativo entre los grupos 1 y 2 ( $p < 0.001$  en los 3 casos) presentando un mayor descenso el grupo 2. El cambio desde el momento basal al nivel de 20 minutos no es diferente entre los dos grupos ( $p = 0.114$ ). Esto nos indica que la evolución en el peso es diferente entre los grupos 1 y 2 (siendo más acentuado en el grupo 2), con respecto al momento basal, a los 5, 10 y 15 minutos, y que en el momento 20 minutos los grupos llegan a un nivel medio de peso similar.

Realizamos a continuación la comparación entre los grupos 1 y 3. Esta comprobación viendo los datos del grupo 3, que son constantes en el tiempo, no tendría mucho sentido realizarla ya que sabemos que el peso del grupo 3 no varía; pero aún así vamos a verificarlo desde el punto de vista estadístico.

#### Pruebas de contrastes intra-sujetos

Medida: MEASURE\_1

Fuente	peso	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Significación
peso	Nivel 2 - Nivel 1	,000	,000	348,805	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,001	,001	501,858	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,001	,001	705,185	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,002	,002	783,336	,000
peso * grupo	Nivel 2 - Nivel 1	,000	,000	348,805	,000
	Nivel 3 - Nivel 1	,001	,001	501,858	,000
	Nivel 4 - Nivel 1	,001	,001	705,185	,000
	Nivel 5 - Nivel 1	,002	,002	783,336	,000
Error(peso)	Nivel 2 - Nivel 1	3,19E-005	4,69E-007		
	Nivel 3 - Nivel 1	7,59E-005	1,12E-006		
	Nivel 4 - Nivel 1	,000	1,59E-006		
	Nivel 5 - Nivel 1	,000	2,30E-006		

Observamos que el descenso que se produce desde el momento basal a los momentos 5, 10, 15 y 20 minutos es estadísticamente significativo entre los grupos 1 y 3 ( $p < 0.001$  en los 4 casos) presentando un mayor descenso el grupo 1.



A continuación, estudiamos la comparación entre los grupos 2 y 3.

**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Medida: MEASURE\_1

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Significación
peso	Esfericidad asumida	,001	,000	1174,510	,000
	Greenhouse-Geisser	,001	,001	1174,510	,000
	Huynh-Feldt	,001	,001	1174,510	,000
	Límite-inferior	,001	,001	1174,510	,000
peso * grupo	Esfericidad asumida	,001	,000	1174,510	,000
	Greenhouse-Geisser	,001	,001	1174,510	,000
	Huynh-Feldt	,001	,001	1174,510	,000
	Límite-inferior	,001	,001	1174,510	,000
Error(peso)	Esfericidad asumida	8,60E-005	3,16E-007		
	Greenhouse-Geisser	8,60E-005	6,99E-007		
	Huynh-Feldt	8,60E-005	6,72E-007		
	Límite-inferior	8,60E-005	1,26E-006		

Observamos que el descenso que se produce desde el momento basal a los momentos 5, 10, 15 y 20 minutos es estadísticamente significativo entre los grupos 2 y 3 ( $p < 0.001$  en los 4 casos) presentando un mayor descenso el grupo 2.

