



Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Odontología

**TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL NORDESTE EN ODONTOLOGIA**

***“Estudio comparativo in vitro, de diferentes sustancias
irrigadoras empleadas para la limpieza del conducto
radicular”.***

Doctorando: Od. Carlos Daniel Lugo De Langhe

Directora: Prof. Dra. María Mercedes González

Co-Directora: Dra. María Lorena Cardoso

2019

Agradecimientos.

A mi primera Directora de Tesis Susana Beatriz Finten que fue la persona que me motivo para hacer esta carrera y que desafortunadamente debido a una enfermedad horrible hoy no está más entre nosotros.

A mi Directora de Tesis que me supo guiar, corregir, esperar e impulsar para poder terminar con este trabajo y por sobre todo, me tuvo la paciencia que cualquier maestro debe tener con un alumno.

A mi Co-directora que fue mi hermana mayor en este camino largo que fue esta tesis, que siempre estuvo disponible para aconsejarme y corregirme gracias a su amplia experiencia en investigación.

A la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste donde comencé con esta vocación y me permiten crecer día a día profesionalmente.

A mis amigos y colegas de la Catedra de Endodoncia que supieron cubrirme muchas veces en las tareas que me correspondían y que los ocupe realizando esta Tesis.

Al Bioquímico Celia Armando Cesar del laboratorio de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste, que me ayudo en todos los procedimientos que tuve que realizarlos allí.

Al personal del Servicio de Microscopia de la Universidad Nacional del Nordeste que me ayudaron a tomar las imágenes y siempre estuvieron disponibles para cualquier consulta.

Con mucho fervor a Dios por todas las bendiciones recibidas.

Dedicatorias

A mí mamá a quien le debo todo lo que soy.

A mí esposa María por ser mi compañera y mi amiga en esta vida, que me ayuda a llevar a cabo todos mis emprendimientos.

A mis hijos Joaquín y Agustina que son la luz y la alegría de todos mis días.

ABREVIATURAS

- AE ácido etidrónico
- AES Agua electrolítica superoxidada
- AM Ácido maleico
- AP ácido peracético
- BD Barro dentinario
- Ca (OH)₂ Hidróxido de calcio
- CR Conducto radicular
- EDTA Acido Etilendiamintetracetico
- HClO Acido hipocloroso
- NaClO Hipoclorito de sodio
- NH₂ Amino
- PD Pieza dentaria
- SESI Soluciones electrolizadas de selectividad iónica
- -SH Sulfhídrico
- VM Vinagre de manzana

ÍNDICE

Página

I. INTRODUCCION	
A. Irrigantes: generalidades.....	6
B. Sustancias irrigadoras	
1. Hipoclorito de Sodio (NaClO)	10
2. Adido Etilendiaminotracetico (EDTA).....	13
3. Vinagre de Manzana (VM).....	15
4. Soluciones Electrolizadas de Selectividad Iónica (SESI).....	17
II. JUSTIFICACION	25
III. HIPÓTESIS.....	26
IV. OBJETIVOS.....	27
V. MATERIALES Y METODOS	
1. Irrigantes utilizados.....	28
2. Obtención de muestras.....	30
3. Criterios para la selección de muestras.....	30
4. Conservación de las piezas dentarias.....	31
5. Apertura para acceso endodóntico.....	31
6. Conformación de los grupos experimentales e instrumentación.....	32
7. Procedimiento de instrumentación e irrigación de forma detallada	
7.1 Acceso cervical.....	35
7.2 Conductometría.....	36
7.3 Conformación apical.....	36
7.4 Técnica de Retroceso Progresivo Programado.....	37
8. Cuantificación proteica.....	38
9. Preparación de las muestras para ser observadas y analizadas en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).....	41

VI.	RESULTADOS	
1.	Análisis de las proteínas	
1.1	Proteínas obtenidas de cada grupo durante la instrumentación con el Espectrofotómetro.....	49
1.2	Análisis de Varianza unidireccional (ANOVA), la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer, sobre las proteínas.....	51
2.	Análisis de las micro-fotografías	
2.1	Análisis de los resultados de la observación de las microfotografías obtenidas en el microscopio electrónico de barrido.....	53
2.2	Prueba de Kruskal-Wallis.....	53
2.3	Prueba de Mann-Whitney.....	55
VII.	DISCUSION.....	59
VIII.	CONCLUSIONES.....	70
IX.	RESUMEN.....	71
X.	BIBLIOGRAFIA.....	73

I. INTRODUCCIÓN

A. Irrigación: Generalidades

El sistema pulpar no se limpia y prepara solo con la instrumentación, aunque la debridación preliminar se logra con instrumentos manuales, la importancia de la irrigación en el resultado del tratamiento del conducto radicular (CR) ha aumentado considerablemente con el tiempo. Paulatinamente, la evidencia acumulada indica que los instrumentos disponibles actualmente no pueden alcanzar muchas partes del sistema de CR, esto ha provocado un cambio en el objetivo principal de la preparación de los CR. Actualmente, la preparación se considera en gran medida un medio para proporcionar acceso a la anatomía apical y permitir que los irrigantes realicen la mayor parte de la limpieza y desinfección del mismo ¹. Por tanto, es necesario emplear el lavado físico y algún medio de disolución química de los tejidos remanentes como por ejemplo los irrigantes.

Las propiedades de las soluciones para irrigación deben incluir acciones físicas y químicas que faciliten la eliminación del contenido de los CR. Es indudable que la irrigación es un procedimiento indispensable en la etapa de preparación biomecánica de la endodoncia, no sólo por los objetivos que persigue sino también por el grado de humectación y lubricación que produce coadyuvando con la instrumentación de la CR, dado que aumenta la eficacia de corte de los instrumentos y además son menos propensos a fracturarse ².

Por otra parte, está comprobado que la instrumentación mecánica en endodoncia no elimina los gérmenes microbianos. Varios estudios llevados a cabo por técnicas avanzadas de la tomografía micro-computarizada, indicaron que áreas proporcionalmente grandes de la pared del CR principal no se tocan con los instrumentos, dejando grandes porciones de dentina intactas sin instrumentar, del 35-53% aproximadamente. Por este motivo es sumamente importante el empleo de las sustancias irrigadoras, tanto en volumen como en

tiempo de acción durante la fase de preparación quimio-mecánica, a fin de lograr la eliminación de estos microorganismos ³⁻⁷.

Todo esto determina, que la irrigación en endodoncia sea un procedimiento de suma importancia en la limpieza y conformación de los CR, cumpliendo una función esencial en la debridación y reducción de los microorganismos presentes en el sistema de conductos. Sus objetivos los cumple mediante la aplicación de una corriente de fluido (antes, durante y después de concluida la preparación químico-mecánica de los mismos), utilizando agentes químicos aislados o combinados (suspensión acuosa y /o viscosa), en el interior de los CR ⁷.

A su vez la anatomía dentaria impone desafíos a esta irrigación, ya que presenta numerosas ramificaciones, como son los conductos colaterales, laterales, secundarios, accesorios, inter-conductos, recurrentes, deltas, intercavos, que dificultan aún más la limpieza del sistema y que por lo tanto tienen una importancia clínica en los resultados finales de la endodoncia, particularmente cuando se asocian con lesiones laterales.

Las bacterias localizadas dentro de los túbulos dentinarios pueden ser responsables de la reaparición de la periodontitis apical post tratamiento. Esto resalta la importancia de lograr una desinfección adecuada de los CR para obtener resultados predecibles a largo plazo ⁸.

Los CR, discurren por la dentina que está compuesta por aproximadamente 22% de material orgánico en peso, donde la mayor parte consiste en colágeno tipo I, que contribuye considerablemente a las propiedades mecánicas de la misma ⁹.

Durante la limpieza y conformación del conducto, se generan restos orgánicos e inorgánicos, que se depositan sobre las paredes del conducto y forman una capa de desecho que se denomina barro dentinario (BD) o smear layer ^{10,11}.

El smear layer está químicamente formado por dos fases: la primera orgánica, compuesta por residuos de colágenos dentinarios y glicosaminoglicanos, sirviendo de base a la segunda fase que es predominantemente inorgánica y que está compuesta por dos capas distintas y superpuestas; la primera delgada no adherente y fácil de remover que cubre las paredes de los conductos, y la segunda que ocluye los túbulos y se adhiere fuertemente a las paredes de los CR ¹². Este BD presenta numerosas desventajas, puede contener bacterias y sus subproductos, además de evitar la penetración de los medicamentos endodónticos en los túbulos dentinarios y alterar el sello entre las paredes de la dentina y la obturación del conducto, condiciones que pueden conducir al fracaso del tratamiento ¹³.

Actualmente, hay amplio consenso a favor de la eliminación del smear layer, porque este substrato no favorece a la obtención de una correcta limpieza, pudiendo contener microorganismos por brindarles soporte, dificultando la acción de medicamentos intraconducto y por crear una interfase que impide un sellado hermético ¹⁴⁻¹⁶.

El irrigante ideal en endodoncia debe tener ¹⁷

- Efectos bactericidas, germicidas y fungicidas.
- Capacidad para servir como lubricante durante la instrumentación.
- Capacidad para disolver tejidos dentinarios orgánicos (tejido pulpar, colágeno y biopelícula)
- Capacidad para disolver tejidos dentinarios inorgánicos.
- No irritar los tejidos periapicales.
- Estabilidad de la solución.
- Actividad antibacteriana prolongada y sostenible después de su uso.
- Actividad en un entorno en el que están presentes productos de proteínas de sangre, suero y tejidos.

- Posibilidad de eliminar completamente la capa de frotis (BD)
- Baja tensión superficial
- Desinfección de dentina y túbulos dentinarios.
- No interferir con la curación del tejido periapical
- No manchar los tejidos de los dientes.
- No debilitar los tejidos dentales.
- No desencadenar una respuesta inmune mediada por células
- Sin efecto antigénico, tóxico o cancerígeno en las células del tejido periférico del diente.
- Sin efecto negativo sobre las propiedades físicas de la dentina expuesta.
- Sin efecto negativo sobre las capacidades de sellado de los selladores.
- Fácil de aplicar y bajo costo.
- Larga vida útil.

El fracaso de la eliminación integral de los microorganismos y sus toxinas puede desencadenar una inflamación persistente o una recuperación parcial de los tejidos involucrados ¹⁸.

Actualmente, la finalidad de la irrigación intraconducto se centra en remover el BD, a fin de lograr reducir el número de microorganismos que puedan estar presentes en él, eliminar los restos orgánicos que sirven de sustrato para el crecimiento y desarrollo bacteriano, aumentar la permeabilidad dentinaria optimizando la desinfección del conducto al permitir una mejor acción del irrigante y de la medicación intraconducto ¹⁹.

No existe una única solución de irrigación que por sí sola cubra suficientemente todas las funciones requeridas de un irrigante, es decir que pueda eliminar los desechos sueltos, el material orgánico e inorgánico. Ninguna de las opciones disponibles se considera ideal, por lo que la

irrigación óptima se basa en el uso combinado de 2 o varias soluciones de irrigación, en una secuencia específica, para obtener predeciblemente los objetivos de una irrigación segura y efectiva ²⁰⁻²².

B. Sustancias Irrigadoras

1. Hipoclorito de Sodio (NaClO)

Entre las soluciones actualmente utilizadas, el NaClO parecería ser el que mejor reuniría los requisitos de un irrigante ideal, disuelve el tejido necrótico como así también los componentes orgánicos de la capa de BD, también se ha demostrado que desintegra biopelículas endodónticas (Biofilm), en condiciones de laboratorio, e inactiva endotoxinas ²³.

El NaClO es un líquido claro, pálido, verde – amarillento, extremadamente alcalino y con fuerte olor clorino, que presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos, además es un potente agente antimicrobiano ²⁴.

Es un compuesto químico resultante de la mezcla de cloro, hidróxido de sodio y agua, su amplia utilización en endodoncia se debe a su capacidad para disolver tejidos, a su acción antibacteriana y a su bajo costo ²⁵.

El NaClO, es una sustancia que se encuentra dentro de los compuestos halogenados en la clasificación de sustancias irrigadores en endodoncia, que gracias a las investigaciones de Dakin y Dunham en 1915, 1916 y 1917 los compuestos a base de cloro empezaron a ser utilizados en medicina, cirugía y odontología ²⁶.

En odontología las soluciones de NaClO más conocidas son ²⁶.

- Solución de NaClO al 0,5% (Líquido de Dakin)
- Solución de NaClO al 1% + ácido bórico (Solución de Milton)
- Solución de NaClO al 2,5% (Licor de Labarraque)
- Solución de NaClO al 4-6,5% (Soda clorada doblemente concentrada)

➤ Solución de NaClO al 5,25 % (Preparación oficial, USP)

Basado en su alto pH (acción de los iones hidroxilo), la eficacia antimicrobiana del NaClO interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática con inhibición enzimática irreversible, alteraciones biosintéticas en el metabolismo celular y destrucción de fosfolípidos observadas en la peroxidación lipídica. La cloraminación de aminoácidos forma cloraminas que interfiere en el metabolismo celular. La oxidación promueve la inhibición enzimática irreversible de las bacterias que sustituyen al hidrógeno por el cloro. La inactivación de la enzima, se puede observar en la reacción del cloro con grupos amino (NH₂) y una oxidación irreversible de grupos Sulfhídrico (-SH), y de enzimas de bacterias (cisteína). Así, el NaClO presenta actividad antimicrobiana con acción sobre sitios enzimáticos esenciales bacterianos, que promueven la inactivación irreversible originada por iones hidroxilo y acción de cloraminación. La disolución del tejido orgánico se produce por la reacción de saponificación, cuando el NaClO destruye los ácidos grasos y los lípidos dando como resultado jabón y glicerol ²⁷.

Se ha sugerido que las variaciones en el pH del NaClO, modificarán su aspecto antimicrobiano y actividades de disolución de tejidos. Se ha encontrado que una reducción del pH a valores alrededor de 6.0 a 7.5 mejora la eficacia antimicrobiana pero dificulta la acción de disolución tisular. Si el pH se reduce a valores por debajo de 4, entonces aumentará la cantidad de cloro gaseoso en la solución, el cloro en forma de gas es volátil y, por lo tanto, inestable, si el NaClO se mezcla con otros irrigantes que poseen valores bajos de pH, existiendo la posibilidad de alterar sus propiedades ²⁸.

También se debe considerar, que a pesar de que todas las soluciones de NaClO son fuertemente alcalinas, luego de disolver la pulpa, el pH disminuye, cambiando el equilibrio químico dinámico con una mayor formación de ácido

hipocloroso (HClO) y una disminución de la velocidad de disolución del tejido²⁹.

Algunas características fisicoquímicas deben mencionarse, el NaClO al 5,25% disuelve el tejido de la pulpa entre los 20 minutos a 2 horas. Estudios in vitro, determinaron la disolución del tejido de pulpa bovina por NaClO (0.5, 1.0, 2.5, 5.0%) concluyéndose que: 1) la velocidad de disolución de los fragmentos de pulpa bovina era directamente proporcional a la concentración de la solución de NaClO; 2) con la elevación de la temperatura de las soluciones de NaClO, la disolución del tejido de pulpa bovina fue más rápida; 3) la variación porcentual de las soluciones de NaClO, 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 NaClO, menor era la reducción de su pH (12)³⁰.

Se debe tener en cuenta que, el NaClO reacciona con los restos orgánicos en el sistema de conductos y de esa manera facilita la limpieza, sin embargo, esta reacción lo va inactivando en su capacidad antibacteriana; por lo tanto, la solución debe ser aplicada frecuentemente al sistema de conductos para que pueda cumplir con sus funciones. Además no tiene actividad antibacteriana residual, por lo tanto si hubieran quedado bacterias luego del tratamiento en los conductillos dentinarios o bien en el BD residual estos pueden infectar nuevamente el CR^{31,32}.

A pesar de tener todas estas ventajas para ser un irrigante en endodoncia con cualidades casi ideales, el NaClO cuando entra en contacto con tejidos vitales, puede causar hemólisis, ulceración de la piel, lesión celular marcada en células endoteliales y fibroblastos, inhibición de la migración de neutrófilos, y si inyecta accidentalmente NaClO en los tejidos periapicales, produce inflamación inicial dolorosa que puede extenderse a los tejidos adyacentes, alcanzando el área periorbital, el labio superior, la mejilla y puede ir

acompañada de hemorragia intersticial profusa con hemorragia de la piel y la mucosa. Si se ha filtrado en el seno maxilar, se informa de un sabor a cloro e irritación de la garganta, finalmente, la necrosis y la infección secundaria pueden hacerse evidentes y pueden diagnosticarse otras complicaciones graves como anestesia o parestesia ³³.

Se han realizado análisis de la toxicidad de los irrigantes endodónticos, llegando a la conclusión que el grado de toxicidad dependía de la solución y su respectiva concentración ³⁴.

Se estudiaron las reacciones de tejido conjuntivo subcutáneo de cerdos expuestos a una solución salina fisiológica estéril e NaClO al 0,9%, 2,1%, 4,1% y 8,4% con el objetivo de determinar cual de las concentraciones de NaClO debería de ser utilizada en procedimientos clínicos, llegando a la conclusión que la concentración clínica ideal de NaClO no debe ser determinada por el tipo de respuesta inflamatoria del tejido conectivo, sino por la acción solvente del hipoclorito y su efecto antimicrobiano ³⁵.

Los efectos citotóxicos del NaClO a diferentes concentraciones dependen casi exclusivamente de la concentración del mismo y no de su tiempo de aplicación, a mayor concentración, produce mayores daños tisulares ³⁶.

El NaClO es la sustancia más utilizada para la irrigación de los CR, a pesar de esto es incapaz de disolver la sustancia inorgánica que se encuentra en el BD, es por esto que se recomienda utilizar en combinación con alguna sustancia quelante desmineralizante como es el EDTA, que actúa sobre las porciones inorgánicas del smear layer facilitando su eliminación ³⁷.

2. Acido Etilendiaminotetraacético (EDTA)

Se denominan quelantes a las sustancias que tienen la propiedad de fijar los iones metálicos en un determinado complejo molecular, el termino quelar deriva del griego “Khele” que significa garra, como la de un cangrejo, ya que

presentan en la extremidad de sus moléculas, radicales libres que se unen a los iones metálicos, fijándolos por una unión coordinada que se denomina quelación ²⁷. La quelación es un fenómeno físico-químico, por el cual ciertos iones metálicos son retirados de los complejos de los que hacen parte, sin constituir una unión química con la sustancia quelante y sin ninguna combinación, promoviendo la descalcificación de la dentina a profundidades aproximadas de 20-30 μm en 5 minutos. Este proceso es repetido hasta acabar la acción quelante y por eso no es efectuado por el mecanismo de disolución ³⁸.

Los agentes quelantes se introdujeron a la endodoncia en 1957 para co-ayudar al NaClO en la preparación de conductos calcificados y angostos, estos forman complejos estables con el calcio propio de la dentina radicular y cuando todos los iones disponibles se han unido, se establece un equilibrio, deteniendo así la disolución del material inorgánico, por lo que las propiedades del EDTA se vuelven autolimitantes. Como agente irrigante, el EDTA ha sido empleado con diversas concentraciones (10,15,17,19%), pH (7.3-7.7-9.0) y tiempos de aplicación (1,2,3,5,10 y15 minutos), sin que todavía exista un verdadero consenso respecto a su aplicación en este sentido ^{39,40}. Sin embargo si se pudo establecer que el efecto desmineralizante se incrementa a mayor concentración y tiempo de aplicación, y que es más efectivo con pH neutro (7,5) que con pH alcalino (9.0) ⁴¹

El EDTA se utiliza como sal disódica o trisódica, siendo un quelante específico para el ion calcio y por consiguiente para la dentina, participando en la lubricación y emulsificación, manteniendo las virutas dentinarias en suspensión. Es una sustancia fluida con un pH neutro de 7,5, utilizándose en una concentración del 10 al 17%. Se le atribuye un cierto efecto antibacterial sobre ciertas especies bacterianas como *Streptococcus alfa hemolíticos* y *Staphylococcus aureus*, y un alto efecto antimicótico, no es tóxico y menos

irritante en soluciones débiles, se recomienda su uso para tratar conductos atrésicos, calcificados o para remover el BD de las paredes del CR ²⁷.

Su mecanismo de acción se basa en una reacción química entre el agente quelante y los iones metálicos de los cristales de hidroxiapatita con la producción de un quelato metálico; el cual reacciona con las terminaciones del agente quelante al remover los iones de calcio de la dentina que se reblandece, cambiando las características de solubilidad y permeabilidad del tejido especialmente la dentina peritubular rica en hidroxiapatita, incrementando el diámetro de los túbulos dentinales expuestos. El quelante también tiene una gran afinidad por los álcalis ferrosos de la estructura dental ⁴¹.

La irrigación final con EDTA al 17%, seguida de NaClO al 5.25%, resulta en una mezcla sinérgica que disminuye la tensión superficial, permitiendo la difusión, facilitada por el NaClO, para obtener una efectiva acción quelante sobre la hidroxiapatita de los túbulos dentinarios ^{42,43}.

Estudios realizados, empleando una combinación de NaClO como una solución de trabajo seguida de un aclarado final de EDTA al 17%, han confirmado que fue la combinación más eficaz en la eliminación de la capa de BD. Aunque en varios trabajos se observó que la asociación NaClO -EDTA provee una efectiva remoción del barrillo dentinario a nivel de los tercios cervical y medio para los tiempos de aplicación evaluados (1,3 y 5 minutos), pero a nivel del tercio apical el grado de remoción fue mucho menor, sobre todo con 1 minuto de aplicación, coincidiendo con hallazgos similares en otros estudios ^{44,45}.

3. Vinagre de Manzana (VM)

Otras alternativas requieren ser evaluadas como por ejemplo el vinagre que ha sido utilizado como agente antiséptico por muchos años, especialmente

para el tratamiento de heridas infectadas, en diferentes áreas de la Salud. Se creía que el vinagre era útil para tratar infecciones en el pasado, Hipócrates (46-377 a. C.) lo recetó para curar pleuresía, fiebre, úlceras y estreñimiento. Su utilización por los antiguos egipcios se restringía a la eliminación de microorganismos. Posteriormente, con la combinación con miel para formar oxymel, era un medicamento estándar para la tos en el mundo antiguo ^{46,47}.

Los vinagres, provienen del alcohol etílico hidratado, que puede ser procedente de diferentes productos, tales como: caña de azúcar, cerveza, cereales, frutas o vino. El proceso de fabricación de los vinagres ocurre mediante un procedimiento biológico, de origen natural, denominado de acetificación. El alcohol etílico contenido en la materia prima es oxidado por la acción del oxígeno purificado y transformado en ácido acético, el producto final obtenido, es denominado vinagre ⁴⁸.

El VM, está compuesto principalmente de ácido málico y presenta muchos minerales como potasio, fósforo, cloro, sodio, magnesio, calcio, azufre, hierro, flúor y silicio. Además, contiene otros elementos, como enzimas y aminoácidos, que son capaces de atacar a los radicales libres que interfieren en la inmunidad del cuerpo humano ⁴⁸.

Investigadores del Departamento de Biotecnología de Alimentos, Instituto de la Grasa (CSIC) en Sevilla, España, realizaron investigaciones sobre la actividad antimicrobiana, ante diferentes microorganismos (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* 0157: H7, *Shigella sonnei* y *Yersinia* sp.), que poseen algunos productos alimenticios, incluido el vinagre: El vinagre (ácido acético al 5%) mostró actividad bactericida contra todas las cepas analizadas, lo que se atribuyó a su acidez ⁴⁹⁻⁵¹.

El uso del VM como irrigante de los CR ha sido propuesto en Endodoncia y merece una atención especial en virtud de los resultados promisorios

obtenidos cuando se la compara con las soluciones de irrigación de NaClO y EDTA ⁵².

4. Soluciones Electrolizadas de Selectividad Iónica (SESI)

En búsqueda de alternativas que permitan una contundencia similar al NaClO debido a las limitaciones del mismo, especialmente en relación a su alta toxicidad sobre los tejidos periapicales, surgió en la literatura la utilización de irrigantes denominados "agua electroquímicamente activada", "agua potencial oxidativa" o "agua superoxidada", siendo todas soluciones oxidantes que contienen HClO y se producen según los mismos principios, pasando una solución salina sobre electrodos recubiertos de titanio. Estas soluciones han sido evaluadas por su capacidad para eliminar los residuos y la capa de BD de los CR y eliminar las bacterias. Los estudios han encontrado resultados favorables y una excelente biocompatibilidad con tejidos vitales ⁵³.

La electrólisis del agua comenzó ya en la primera revolución industrial, en el año 1800, cuando Nicholson y Carlisle fueron los primeros en descubrir la capacidad de descomposición del agua electrolítica. En 1902, más de 400 unidades de electrólisis de agua industrial estaban en funcionamiento y en 1939 entró en funcionamiento la primera planta grande de electrólisis de agua con una capacidad de 10.000 Nm³ H₂ / h. En 1948, el primer electrolizador industrial presurizado fue fabricado por Zdansky / Lonza. En 1966, el primer sistema de electrolito de polímero sólido (SPE) fue construido por General Electric, y en 1972 se desarrolló la primera unidad de electrólisis de agua de óxido sólido. Los primeros sistemas alcalinos avanzados comenzaron en 1978. La historia termina en nuestros días con el desarrollo de membranas de intercambio de protones, utilizables para unidades de electrólisis de agua y celdas de combustible, por DuPont y otros fabricantes, debido a los

desarrollos en el campo de la alta temperatura sólida la tecnología de óxido y por la optimización y reconstrucción de electrolizadores de agua alcalina ⁵⁴.

Su eficacia no es provocada por el desencadenamiento de reacciones químicas, sino que actúa como simple portador del agente activo (HClO) ya estabilizado. El agua electrolizada (**fig. 1**) se obtiene a partir de una solución saturada de cloruro sódico al 26 % diluida en agua de la red. Esta disolución se hace pasar a través de una cámara que cuenta con dos electrodos, uno positivo (ánodo) y otro negativo (cátodo), divididos por una membrana diafragmática, y a la que se le induce corriente eléctrica. A consecuencia de ello, los electrones se agitan, siendo los iones de sodio y de hidrógeno atraídos por el cátodo y generando diversos elementos, principalmente derivados de cloro, hidrógeno y oxígeno. Tras el proceso de electrólisis diafragmática se obtienen dos soluciones: agua electrolizada ácida o agua electrolizada oxidante, generada en la cámara del ánodo, y agua electrolizada básica o agua electrolizada reducida, generada en la cámara del cátodo. Posteriormente, estas dos soluciones pueden combinarse dando lugar al agua electrolizada neutra ⁵⁵.

Existen muchos términos para referirse a las soluciones de agua electrolizada ácida, tales como soluciones de superoxidación, ácidos fuertes electrolizados en solución acuosa, soluciones oxidantes mixtas o solución electrolítica ácida. Aunque todas las soluciones de agua electrolizada son obtenidas por un proceso de electrólisis similar, las variaciones en la concentración activa y en su pH producen agentes antimicrobianos con diferente potencia microbicida. Sin embargo, todas ellas comparten un espectro antimicrobiano amplio, con capacidad microbactericida, viricida y bactericida en menos de 5 minutos y esporicida en 10 minutos ⁵⁶.

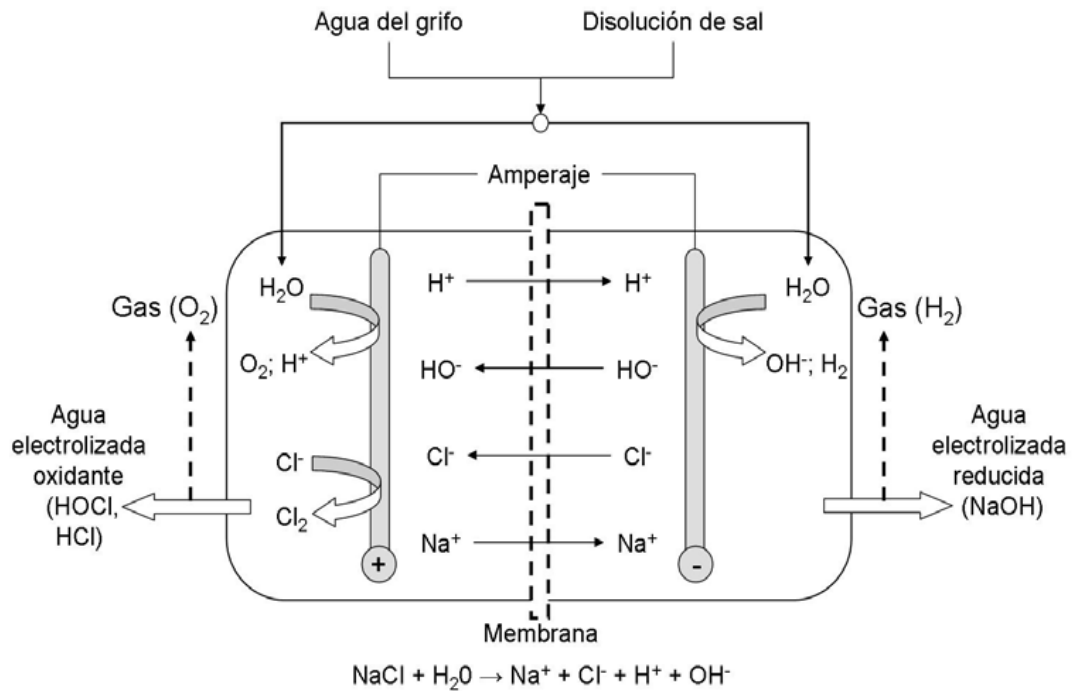


Figura 1. Esquema del proceso de obtención de agua electrolizada

El efecto bactericida del agua electrolizada parece ser atribuido a su elevado potencial de oxidorreducción y a la existencia de iones activos, controlados y estables que le confieren un amplio espectro de actividad, que incluye bacterias, hongos y esporas ⁵⁶.

Ese mecanismo oxidorreductor se realizaría sobre el enlace b 1-4 de los lipopolisacáridos, sobre los grupos -SH y los aminoácidos de la pared bacteriana. De este modo se afecta al proceso de respiración y nutrición de los microorganismos, produciéndose oxidación de los componentes respiratorios, inhibición de la síntesis de proteínas, rotura de las cadenas de ácido ribonucleico (ARN) y represión en la síntesis de moléculas del metabolismo celular, con disminución de la producción de ATP (adenosin trifosfato). Por lo que respecta a las propiedades viricidas, el agua electrolizada produce alteración de la cápside, ADNasas y ARNasas víricas. Debido a la concentración de iones y a su estabilidad química, el agua

electrolizada con pH neutro, puede considerarse como no tóxica para las células eucarióticas, incluidas las del organismo humano ⁵⁷.

Las ventajas como esterilizante, hasta ahora conocidas del agua electrolítica superoxidada (AES), registrada en Europa como Sterilox®, es su no toxicidad y su alta efectividad aun contra micobacterias, después de 5 minutos de exposición. En ensayos experimentales, la SESI ha demostrado ser totalmente inocua al contacto con células eucariotas, incluso cuando se exponen superficies mucosas o al endotelio peritoneal. Esta característica le confiere una mayor seguridad laboral durante su uso hospitalario, ya que su manejo no requiere de medidas extremas para la seguridad ni de instalaciones especiales para su manejo ⁵⁸.

En Argentina existe un laboratorio que produce las SESI para distintos hospitales y centros medicos, BIOWATER (**fig. 2 y 3**) del laboratorio ALQUIMAHE S.R.L., este es el primer laboratorio en Argentina aprobado por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) para la elaboración de soluciones superoxidadas. Laboratorio aprobado por ANMAT disposición N°5892/09, y por MSyAS resolución N°000461. Producto aprobado por ANMAT disposición 0828.

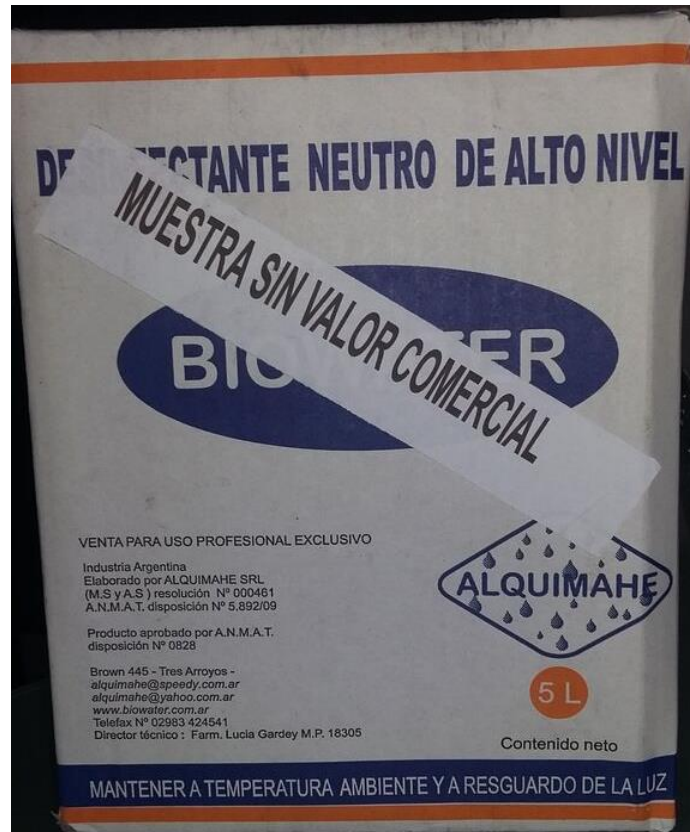


Figura 2. SESI Marca Biowater del Laboratorio Alquimahe

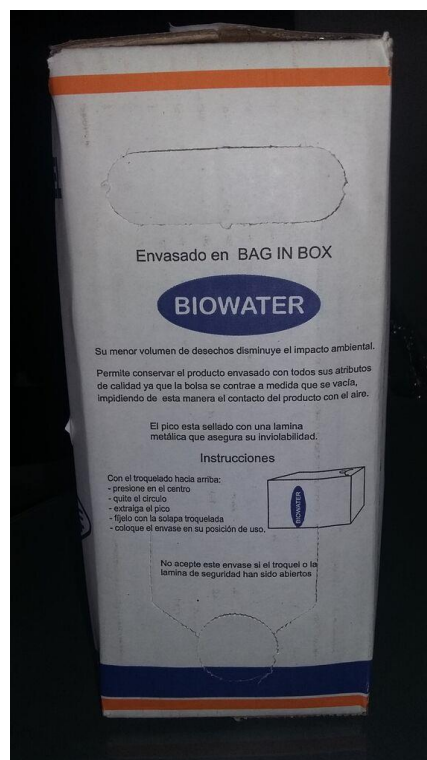


Figura 3. SESI Marca Biowater del Laboratorio Alquimahe

Según el fabricante BiOWATER presenta: **(fig. 4)**

Usos:

- Desinfección y esterilización de instrumental quirúrgico y de productos médicos.
- Desinfección y esterilización de material termosensible, ambientes superficies y elementos inanimados que se encuentran en áreas restringidas al cuidado de la salud.
- No para uso industrial.
- Activo contra esporas, virus, micobacterias, bacterias y hongos.

Instrucciones de uso:

- BiOWATER se emplea de modo directo sin necesidad de activación o dilución.
- Para efectuar una desinfección de alto nivel deberá hacerse un exhaustivo lavado del material con agua y tensioactivos para saponificar las grasas y erradicar por completo cualquier materia orgánica.
- Posteriormente el material deberá ser sumergido en su totalidad en BiOWATER, al menos durante 15 minutos.
- Al cabo de este tiempo podrá ser utilizado de inmediato sin necesidad de enjuagarse.
- Es importante recalcar que ALQUIMAHE garantiza la desinfección de alto nivel cuando BiOWATER se usa de la forma indicada.
- Estabilidad del baño de remojo: 15 días.

Precauciones para su uso:

- La solución se clasifica como no peligrosa.
- Es totalmente biodegradable.
- No presenta riesgo potencial al ambiente.
- Se descarta por el desagüe.
- No irrita piel ni mucosas.
- No emite vapores, por lo que no hay riesgos para quienes realizan la desinfección de instrumental o áreas.
- No produce ningún tipo de manchas ni decoloración de tejidos.
- No posee restricciones sobre los materiales a ser tratados por el producto.
- La solución no reacciona con otros materiales.

Composición:

- ✓ Acido hipocloroso 320-400 ppm
- ✓ Hipoclorito de Sodio 80-100 ppm
- ✓ Cloruro de Sodio 0.26%
- ✓ Ph= 6,5 – 7,5
- ✓ Potencial redox > 800 mV

USOS	PRECAUCIONES PARA SU USO
<p>Desinfección y esterilización de instrumental quirúrgico y de productos médicos.</p> <p>Desinfección y esterilización de material termosensible, ambientes superficies y elementos inanimados que se encuentran en áreas restringidas al cuidado de la salud.</p> <p>No para uso industrial.</p> <p>Activo contra esporas, virus, micobacterias, bacterias y hongos.</p>	<p>La solución se clasifica como no peligrosa.</p> <p>Es totalmente biodegradable.</p> <p>No presenta riesgo potencial al ambiente.</p> <p>Se descarta por el desagüe.</p> <p>No irrita piel ni mucosas.</p> <p>No emite vapores, por lo que no hay riesgos para quienes realizan la desinfección de instrumental o áreas.</p> <p>No produce ningún tipo de manchas ni decoloración de tejidos.</p> <p>No posee restricciones sobre los materiales a ser tratados por el producto.</p> <p>La solución no reacciona con otros materiales.</p>
INSTRUCCIONES DE USO	COMPOSICIÓN
<p>BIOWATER se emplea de modo directo sin necesidad de activación o dilución.</p> <p>Para efectuar una desinfección de alto nivel deberá hacerse un exhaustivo lavado del material con agua y tensioactivos para saponificar las grasas y erradicar por completo cualquier materia orgánica.</p> <p>Posteriormente el materia deberá ser sumergido en su totalidad en BIOWATER, al menos durante 15 minutos.</p> <p>Al cabo de este tiempo podrá ser utilizado de inmediato sin necesidad de enjuagarse.</p> <p>Es importante recalcar que ALQUIMAHE garantiza la desinfección de alto nivel cuando BIOWATER se usa de la forma indicada.</p> <p>Estabilidad del baño de remojo: quince días.</p>	<p>Acido hipocloroso 320-400 ppm Hipoclorito de Sodio 80-100 ppm Cloruro de Sodio 0.26 % Ph = 6,5 - 7,5 Potencial redox > 800 mV</p>
	RECOMENDACIONES
	<p>ANTES DE USAR LEA LAS RECOMENDACIONES</p> <p>MANTENER A TEMPERATURA AMBIENTE Y AL RESGUARDO DE LA LUZ</p> <p>En caso de ingestión accidental o malestar no inducir al vomito, en caso de contacto con los ojos o piel lavar con abundante agua, si la irritación persiste acuda al médico o al centro asistencial mas próximo o al Centro toxicológico del Hospital de Niños Te. 011-4962-6666/2247; Centro toxicológico Nacional, Hospital Posadas Te. 011-4656-7777 Hospital Pedro Elizalde (ex Casa Cuna) Te. 011-4300-2115 Hospital de niños de La Plata Te.0221-451-5555. Concurre con la etiqueta o envase del producto.</p>

Figura 4. Instrucciones del fabricante, SESI Marca Biowater del Laboratorio Alquimahe

II. JUSTIFICACIÓN:

La limpieza y desinfección de los CR se produce en gran medida gracias a la utilización de las sustancias irrigadoras, el NaClO se recomienda como la principal sustancia irrigadora debido a su capacidad para disolver la materia orgánica junto con su amplia acción antimicrobiana. Los protocolos de irrigación utilizados para la limpieza contienen solución de NaClO al 2,5-5,25% combinado con un agente quelante. El uso de NaClO 5,25% y EDTA 17%, se ha propuesto como una excelente combinación de irrigantes, que elimina con eficacia los desechos y el smear layer, además de considerarse el estándar de oro en protocolos de irrigación endodóntica debido a su muy buen efecto de disolución del tejido ⁵⁹.

Todo lo expresado es muy importante, pero se debe considerar que una sustancia irrigadora debe cumplir con los parámetros aceptables de biocompatibilidad, aunque algunas son dañinas para las células y causan dolor severo si tienen acceso a los tejidos periapicales.

El NaClO es tóxico para los tejidos, sus efectos citotóxicos son directamente proporcionales a su concentración, y las complicaciones que causan como reacciones tisulares severas asociadas con la extrusión accidental de NaClO en tejidos periapicales, han sido muy bien documentadas en la literatura, accidentes que van desde inyecciones de NaClO inadvertidamente en el seno maxilar o de inyecciones involuntarias en la mucosa oral, produciendo reacciones tisulares adversas con respuestas alérgicas potencialmente mortales ⁶⁰.

Por todo lo expuesto, se torna necesaria la implementación de estudios que permitan evaluar la acción de sustancias alternativas para la irrigación de los CR, que posean la contundencia de acción del NaClO pero sin la toxicidad del mismo.

III. HIPÓTESIS

La asociación irrigadora entre las SESI y el EDTA al 17% producen una mayor limpieza de las paredes del CR, que la asociación entre el NaClO al 5,25% y el EDTA al 17%.

HIPÓTESIS NULA

No existen diferencias en la limpieza de las paredes del CR utilizando la asociación irrigadora de SESI - EDTA al 17% y de NaClO al 5,25% - EDTA al 17%.

IV. OBJETIVOS:

A. Objetivos Generales:

- Evaluar y comparar el grado de limpieza de soluciones irrigadoras en la dentina del conducto radicular, post instrumentación.

B. Objetivos Particulares:

- Establecer el grado de desbridamiento de la pared dentinaria del conducto radicular de las soluciones de irrigación, cuantificando la concentración de proteínas que se obtiene después de los lavajes.
- Determinar a través de microscopía electrónica de barrido, el grado remoción del barro dentinario que generan las diferentes sustancias irrigadoras en las paredes del conducto.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Se comparo in vitro, la capacidad de limpieza y acondicionamiento final de la dentina, utilizando la asociacion de diferentes sustancias irrigadoras.

1. Irrigantes Utilizados:

-NaClO al 5,25% (marca Tedequim, producto autorizado por ANMAT disposición 1277-12) (fig. 5)

-EDTA al 17% (marca Tedequim, producto autorizado por ANMAT disposición 1277-12) (fig. 6)

-VM (marca comercial conocida)

-SESI (marca Biowater, producto autorizado por ANMAT disposición 0828)



Figura 5. Hipoclorito de Sodio al 5,25% del laboratorio TEDEQUIM



Figura 6. EDTA del Laboratorio TEDEQUIM

Se solicitó al Laboratorio Alquimahe SRL, el envío de SESI. Dicho laboratorio se encuentra situado en Alte. Brown 445, Tres Arroyos - Buenos Aires, Argentina, que oportunamente se habían ofrecido en ceder de forma gratuita la solución.

Se envió el proyecto al Comité de Bioética de la Facultad de Odontología para ser analizado y evaluado. Aprobación del Proyecto de Investigación por el Comité de Bioética de investigación de la Facultad de Odontología según Res. 228/15 C.D.

2. Obtención de muestras

Se recolectaron premolares humanos superiores o inferiores, de la clínica de Cirugía y Traumatología Buco Máxilo Facial de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste, donde se seleccionaron 75 piezas dentarias teniendo en cuenta criterios de inclusión y exclusión.

3. Criterios para la selección de las muestras

Criterios de inclusión:

- Piezas dentarias con desarrollo radicular completo, constricción apical y foramen permeable a una lima de pasaje K N° 10.
- Unirradiculares con clase I de Weine
- Premolares que tengan una longitud total (desde el vertice de la cúspide hasta la vértice apical anatómico de la raíz) de entre 19 mm a 22 mm.
- Raíces rectas, sin presencia de reabsorción cemento-dentinaria.
- Dientes extraídos para fines de ortodoncia.
- Dientes extraídos por razones periodontales

Criterios de exclusión:

- Piezas dentarias atrésicas, no permeables al pasaje de una lima K N° 10
- Premolares excesivamente cortos o muy largos.
- Premolares multirradiculares o multiconducto.
- Premolares con defectos de formación.
- Premolares con grandes grietas o fracturas

4. Conservación de las piezas dentarias

Las piezas dentarias fueron almacenadas en un recipiente ad-hoc con suero fisiológico y esponja vegetal bajo refrigeración a 4°C hasta el momento de su utilización (**fig. 7**).

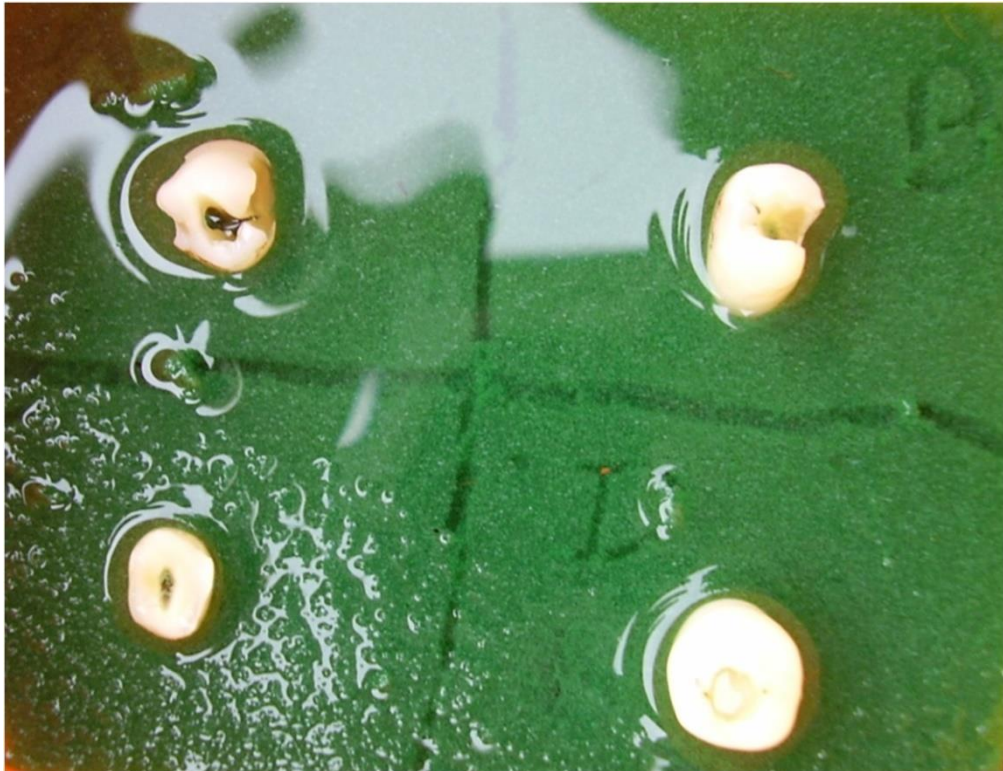


Figura 7. premolares en en esponja vegetal con suero fisiológico

Luego, se tomó una radiografía periapical de cada pieza dentaria para corroborar de forma inicial que se estuviera cumpliendo con los criterios de inclusión y exclusión.

5. Apertura para acceso endodóntico

Se realizó apertura para acceso endodóntico en la totalidad de las muestras (75 premolares), con fresa troncocónicas 701/702 para alta velocidad, según la técnica propuesta por Ingle ³⁷. Se comenzó a alta velocidad y refrigeración acuosa continua en el centro de la cara oclusal, se ubicó la fresa

perpendicular a dicha cara y se fue realizando una muesca en sentido de las caras vestibulo – palatino o lingual, antes de ingresar a la cámara oclusal se cambió la fresa por una redonda que dependiendo del tamaño podía ser N° 2, 4 o 6, se ingresó a la cámara pulpar a baja velocidad y una vez adentro se fueron realizando movimientos de adentro hacia fuera eliminando todo el techo. Utilizando un explorador endodóntico angulado con la punta del mismo se comprobó con movimientos desde las paredes hacia oclusal que se haya producido la eliminación completa del techo de la cámara pulpar. Se cambió nuevamente la fresa redonda por una fresa Endo Z (fresa especial que posee su punta inactiva) y a alta velocidad se rectificaron y alisaron las paredes, dándoles una orientación divergente hacia oclusal.

Luego se realizó cateterismo de las piezas dentarias para comprobar la permeabilidad de los conductos haciendo pasar una lima K N° 10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza), a lo largo de este, asegurando la ausencia de obstrucciones, escalones, calcificaciones, o cualquier otro defecto, cumplimentando con los criterios de inclusión y exclusión.

6. Conformación de los grupos experimentales e instrumentación:

Las piezas dentarias fueron distribuidas aleatoriamente en 5 grupos de 15 unidades experimentales cada uno:

- **Grupo I: Agua destilada (H₂O)**

Se irrigaron los conductos radiculares después de cada cambio de instrumento con H₂O.

- **Grupo II: (SESI + vinagre de manzana)**

Se irrigaron los conductos radiculares después de cada cambio de instrumento con SESI + VM en forma alternada.

- **Grupo III: (SESI + EDTA al 17%)**

Se irrigaron los conductos radiculares después de cada cambio de instrumento con SESI + EDTA al 17% en forma alternada

- **Grupo IV: (NaClO 5,25% + vinagre de manzana)**

Se irrigaron los conductos radiculares después de cada cambio de instrumento con NaClO al 5,25% + VM en forma alternada .

- **Grupo V: (NaClO 5,25% + EDTA al 17%)**

Se irrigaron los conductos radiculares después de cada cambio de instrumento con NaClO al 5,25% + EDTA al 17% en forma alternada.

Se establecieron dos grupos controles, uno de control negativo el grupo I: Agua destilada (H₂O), que se presenta sin principios activos que pudieran actuar sobre las paredes del CR, solo con función de arrastre, y como grupo de control positivo el V: (NaClO 5,25% + EDTA al 17%), que presenta una asociación de sustancias con principios activos sobre el sustrato dentinario, y es la combinación considerada la elite mundialmente probada con capacidad antibacteriana y de eliminación del BD dejando las paredes limpias.

Se realizó la instrumentación de los 75 premolares humanos in vitro, utilizando la Técnica mixta, que consiste en realizar un ligero acceso en cervical de los CR con limas manuales tipo K N° 15 – 20 – 25 y limas Hestrom N° 15 – 20 – 25, con movimientos laterales (brushing) abarcando el tercio cervical del conducto siempre trabajando sin presión, sin forzar los instrumentos, este paso

es esencial para asegurar que exista suficiente lugar para el ingreso de las Gates Gliden, evitando de esta manera accidentes operatorios. Luego se utilizaron fresas Gates Gliden N° 1 – 2 – 3 y 4, la última fue utilizada solo en la entrada del CR, siempre con movimientos de adentro hacia fuera sin forzar el instrumento.

Una vez realizado el acceso cervical se procedió a tomar la conductometría con una lima K N° 15, esto se realizó de forma visual haciendo pasar la lima hasta observarse la salida de la misma por el foramen, luego se retrocedió nuevamente hasta que la punta ya no fuera visible, se marcó con un tope de goma hasta una referencia anatómica (tomándose generalmente la punta de la cúspide vestibular) y se registró la longitud en una planilla.

La instrumentación del tercio apical se realizó con limas manuales tipo K N° 15 – 20 – 25, realizando una técnica de escariado convencional. Una vez que se instrumentó hasta la lima K N° 25 se continuo con la Técnica de Retroceso Progresivo Programado, que consiste que por cada milímetro que me alejo de mi longitud de trabajo se aumenta un número de instrumento, instrumentando de forma in-out llegando hasta la lima K N° 50, que posee el mismo diámetro en su punta (0,50 mm) que la Gates Gliden N° 1 (0,50 mm), de esta manera se unieron las preparaciones cervicales y apicales realizadas.

Para que se produjera una homogenidad en la cantidad de mililitros irrigado en cada muestra, se utilizo un total de 20 ml para cada una (**fig. 8**), desde el acceso cervical hasta la culminación de la preparación, irrigando entre instrumento e instrumento 1 mm de solución (de uno y el otro irrigante de forma alternada).



Figura 8. Mesa de trabajo con los Irrigantes.

7. Procedimiento de instrumentación e irrigación en forma detallada:

7.1 Acceso Cervical: Solo se instrumento el tercio cervical del CR.

- Irrigante A 1 ml
- Lima K 15
- Irrigante B 1 ml
- Lima K 20
- Irrigante A 1 ml
- Lima K 25
- Irrigante B 1 ml
- Lima H 15
- Irrigante A 1 ml
- Lima H 20
- Irrigante B 1 ml
- Lima H 25
- Irrigante A 1 ml
- Gates Gliden N° 1
- Irrigante B 1 ml
- Gates Gliden N° 2
- Irrigante A 1 ml
- Gates Gliden N° 3

- Irrigante B 1 ml
- Gates Gliden N° 4
- Irrigante A 1 ml

En este paso de la técnica se hizo un limado suave (se introdujo el instrumento, se lo recostó contra una de sus paredes y se traccionó, esto se fue realizando en cada pared en sentido de las agujas del reloj) abarcando solo el tercio cervical de la PD, esto también es conocido en la literatura como acceso radicular temprano, y se realiza para dar lugar a las fresas de Gates Gliden, de esta manera se evitan accidentes como perforaciones en banda o rotura por atascamiento del instrumental.

7.2 Conductometría

Generalmente en el paciente la conductometría se realiza tomando una radiografía para corroborar que la longitud de trabajo sea la adecuada, como este trabajo fue in vitro no hubo la necesidad de realizarlo de esta forma ya que no se produciría ninguna variación en los resultados finales del mismo, además se evitaron exposiciones innecesarias a las radiaciones X del personal de trabajo. La conductometría fue efectuada visualmente como la realizada por Sequeira et al.⁶¹, haciendo pasar la punta de una lima K N°15 a través del foramen de la PD y una vez conseguido esto se fue retrocediendo hasta que no se observó más la misma, se acercó el tope de goma hasta la referencia anatómica, se retiró el instrumento, se lo midió con una regla milimetrada y se anotó la medida en una hoja.

7.3 Conformación Apical: Solo se instrumento en el tercio apical del CR.

- Lima K 15 (Escariado en la longitud de trabajo)
- Irrigante B 1 ml
- Lima K 20 (Escariado en la longitud de trabajo)

- Irrigante A 1 ml
- Lima K 25 (Escariado en la longitud de trabajo)
- Irrigante B 1 ml

Como las PD dentarias seleccionadas eran rectas en este paso de la técnica se efectuó un escariado convencional que consistió en la introducción del instrumento hasta la longitud de trabajo, luego se realizó un giro de un cuarto o media vuelta en sentido de las agujas del reloj y se traccionó, esto se ejecutó repetidamente hasta que el instrumento quedaba flojo y allí se procedió a cambiar por otro más grande.

7.4 Técnica de Retroceso Progresivo Programado

- Lima K 30 (1 mm menos que la longitud de trabajo)
- Irrigante A 1 ml
- Lima K 35 (2 mm menos que la longitud de trabajo)
- Irrigante B 1 ml
- Lima K 40 (3 mm menos que la longitud de trabajo)
- Irrigante A 1 ml
- Lima K 45 (4 mm menos que la longitud de trabajo)
- Irrigante B 1 ml
- Lima K 50 (5 mm menos que la longitud de trabajo)
- Irrigante A 1 ml
- Irrigante B 1 ml

En este paso de la técnica el primer instrumento del retroceso ingresó a 1 mm menos de la longitud de trabajo, se le imprimieron movimientos int-out hasta que quedara flojo y una vez conseguido esto se cambió por otro instrumento más grande, que ya ingresaba a trabajar a 1 mm menos que el anterior, de esta forma se instrumentó hasta la lima K N° 50.

8. Cuantificación proteica:

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma.

Se recolectaron 10 ml de solución irrigante en tubos de ensayo de cada muestra (tomando de la porción intermedia de los tubos), los cuales fueron centrifugados en la centrifugadora marca Gelec modelo 142 (**fig. 9**) del laboratorio de la FOUNNE Área Físico – Química durante 10 minutos a una velocidad de 6000 rpm. Se tomó el sobrenadante de cada tubo de ensayo y utilizando el reactivo Proti U/LCR (**fig. 10**) del laboratorio Wiener Lote N° 1505165300 (método colorimétrico cuantitativo para la determinación de proteínas en orina y líquido cefalorraquídeo), se mezcló e incubó en una incubadora eléctrica (**fig. 11**) en tubos durante 10 minutos a 37° C. Utilizando una solución standard de albúmina 100 mg/dl (1,0 g/l) se realizó la lectura en un Espectrofotómetro a 600 nm (longitud de onda), se utilizó el de marca Spectrum (**fig. 12**) del laboratorio de la FOUNNE Área Físico – Química, donde los datos obtenidos y expresados en nm fueron consignados a una planilla para luego realizar una base de datos.



Figura 9. Centrifugadora marca Gelec modelo 142

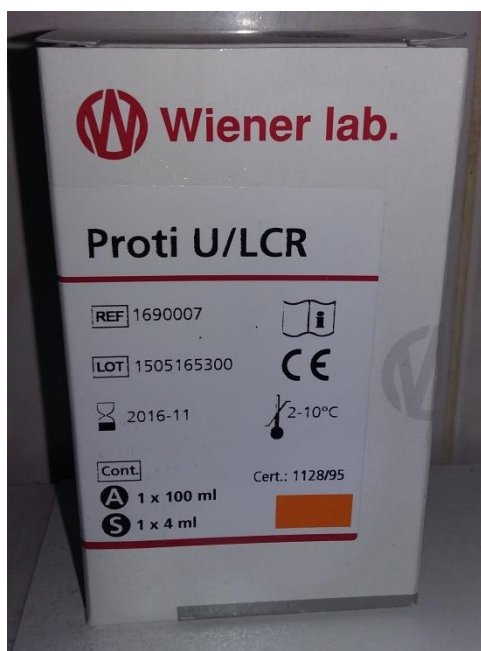


Figura 10. Proti U/LCR
Método colorimétrico cuantitativo para la determinación de proteínas en orina y líquido cefalorraquídeo



Figura 11. Incubadora

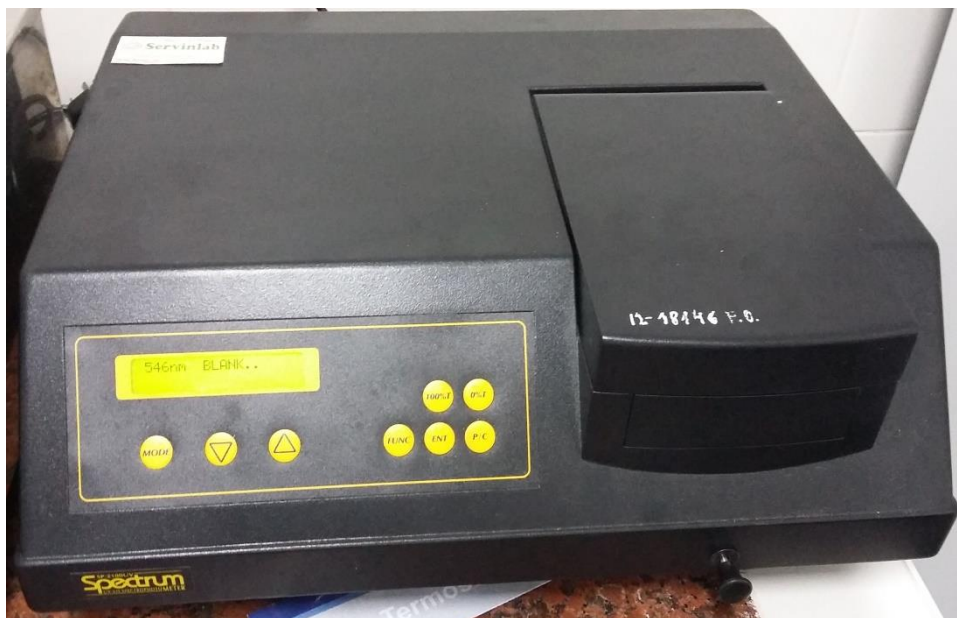


Figura 12. Espectrofotómetro (Marca Spectrum)

9. Preparación de las muestras para ser observadas y analizadas en el MEB:

Los Dientes fueron cortados con discos de carborundum, primero en forma perpendicular al eje mayor a nivel cervical para eliminar la corona y separar la raíz (**fig. 13**), luego se procedió a realizar un corte longitudinal a lo largo del eje largo de la misma, teniendo la precaución que este corte no llegase a exponer el conducto radicular de la raíz (**fig. 14**), de esta manera a través de un cincel y un mazo, con pequeños golpes se terminó de separar la misma en dos fragmentos (**fig. 15**), exponiendo el CR sin la contaminación que se hubiera producido si se realizaba el corte total con el disco ⁶² (**fig. 16**). Luego se seleccionó la mitad con el CR más viable para rotularlo y guardarlo para su estudio.



Figura 13. Cortado de los dientes con discos de carborundum



Figura 14. Diente cortado con disco de carborundum antes de ser separado con cincel



Figura 15. Dientes separados



Figura 16. Diente cortado y separado

Los fragmentos fueron llevados al Servicio de Microscopia de la Universidad Nacional del Nordeste.

Las muestras se deshidrataron con concentraciones ascendentes de alcohol etílico (30–100%) y se colocó en un desecador durante 24 hs. A continuación, se procedió al metalizado de las mismas, recubriéndolas con oro por pulverización catódica, a fin de que actúe como facilitador en la conducción de los electrones (**fig. 17**).

Para este procedimiento se utilizó el metalizador Denton Vacuum Desk II (**fig. 18**), que permitió la aplicación de una fina capa de metal precioso en la muestra para facilitar la formación de imágenes con el microscópico electrónico de barrido (MEB).

Luego las muestras en los discos así metalizados se colocaron dentro de la cámara de vacío del microscopio (**fig. 19**), que luego de conseguir el vacío

podieron ser visualizadas a una magnificación de 1700x utilizando el MEB (JEOL-JSM- 5800LV) (**fig. 20**).

En el presente estudio, las técnicas e instrumentos para la recolección de datos fueron efectuados por el doctorando, bajo el asesoramiento y verificación de los Técnicos del Servicio de Microscopia Electrónica de Barrido de la Universidad Nacional del Nordeste. Se obtuvieron micro-fotografías del tercio medio de cada CR, siempre seleccionando el área más representativa que mostrase la mayor cantidad de escombros y BD.



Figura 17. Las muestras metalizadas en los discos



Figura 18. Denton Vacuum Desk II



Figura 19. Cámara de vacío



Figura 20. Microscopio Electrónico de Barrido JEOL-JSM- 5800LV

Se obtuvieron un total de 75 imágenes (**fig. 21**) las cuales fueron guardadas en cd debidamente rotuladas.

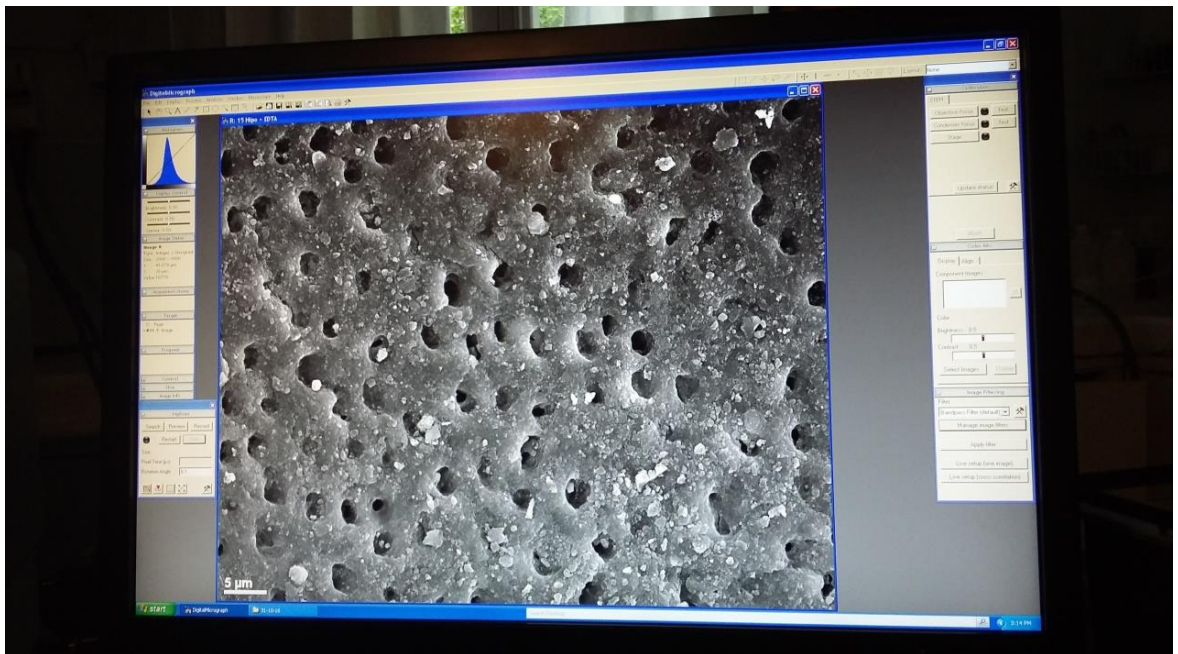


Figura 21. Micro-fotografía vista en la pantalla del MEB a 1700x

Posteriormente un solo operador que fue calibrado y sin conocimiento de a que grupo pertenecía cada imagen, realizó el análisis, consignando niveles de limpieza a cada una de las micro-fotografías a través de 5 niveles o categorías, similares a los propuestos por Torabinejad et al.⁶³, y Elnagthy et al.⁶⁴, que son: **(fig. 22)**

- ❖ 1= Ausencia de barro dentinario (BD) con todos los túbulos abiertos,
- ❖ 2= Mínima cantidad de BD con más del 75% de túbulos abiertos;
- ❖ 3= Moderada cantidad de BD con más del 50% de túbulos abiertos;
- ❖ 4= Gran cantidad de BD con solo del 25% de túbulos abiertos;
- ❖ 5= La capa residual de BD cubre toda el área.

Los datos obtenidos de la observación y análisis de las microfotografías fueron cargados en una base de datos para su posterior análisis.

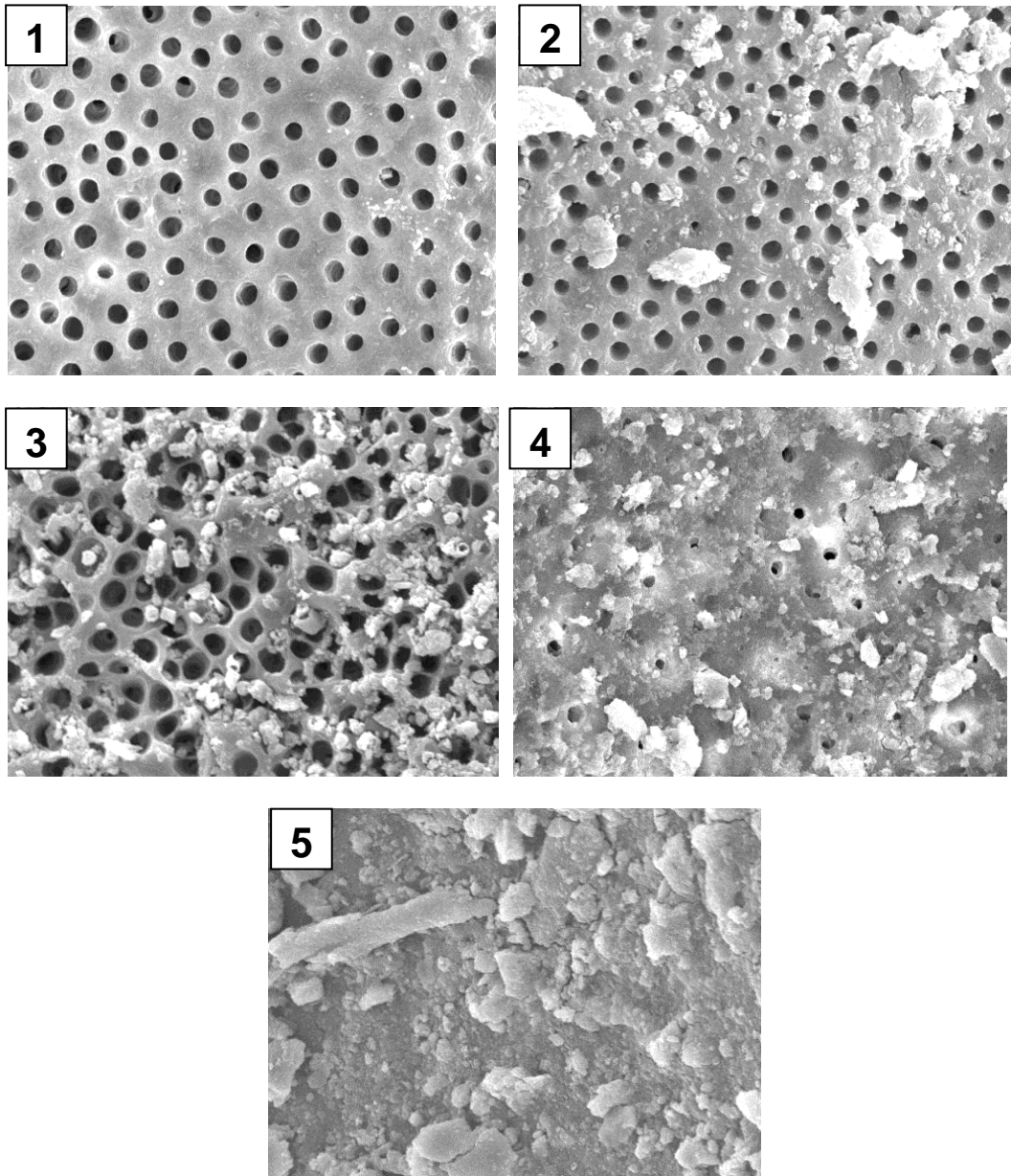


Figura 23. Categorías de limpieza. 1= Ausencia de barro dentinario (BD) con todos los túbulos abiertos; 2= Mínima cantidad de BD con más del 75% de túbulos abiertos; 3= Moderada cantidad de BD con más del 50% de túbulos abiertos; 4= Gran cantidad de BD con solo del 25% de túbulos abiertos; 5= La capa residual de BD cubre toda el área.

VI. RESULTADOS

En este estudio se utilizaron muestras independientes, y se obtuvieron dos datos diferentes, los de la eliminación de proteínas por parte de los irrigantes de las paredes de los CR a través de la cuantificación de las mismas en un espectrofotómetro y por el otro el grado de limpieza de las paredes del CR analizando las micro-fotografías obtenidas en el MEB que luego fueron categorizadas por un operador. Esto determinó que tengamos en esta investigación variables categóricas ordinales y variables numéricas continuas. Por lo tanto el análisis estadístico se realizó con pruebas paramétricas (ANOVA) y con pruebas no paramétricas (Prueba de Kruskal-Wallis y Prueba de Mann-Whitney), para esto se utilizaron dos programas, el GraphPad InStat 3 (Trial), para las paramétricas y el InfoStat para las no paramétricas. Los resultados expresados se analizaron considerando diferencia significativa un $p < 0.05$.

1. Análisis de las Proteínas

1.1 Proteínas obtenidas de cada grupo durante la instrumentación con el Espectrofotómetro.

Como ya se mencionó, para analizar la eliminación de proteínas por parte de los Irrigantes se utilizó el programa GraphPad InStat 3 (Trial)

Tabla 1. Proteínas obtenidas en cada grupo experimental

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
Col. title	H2O	SESI+VINAGRE	SESI+EDTA	HIPO+VINAGRE	HIPO+EDTA
Mean	59.33 nm	77.93 nm	354.26 nm	263.53 nm	556 nm
Sample size (N)	15	15	15	15	15
Std. Error of mean(SEM)	3.52 nm	3.81 nm	16.66 nm	9.94 nm	9.49 nm
Lower 95% conf. limite	51.77 nm	69.76 nm	318.52 nm	242.20 nm	535.64 nm
Upper 95% conf. limit	66.89 nm	86.10 nm	390.02 nm	284.87 nm	576.36 nm
Minimum	45 nm	53 nm	267 nm	202 nm	507 nm
Median (50 th percentile)	55 nm	77 nm	350 nm	265 nm	557 nm
Maximum	93 nm	98 nm	471 nm	327 nm	620 nm

En la **Tabla 1**, teniendo en cuenta la Media de los grupos, se puede apreciar que existe una gran diferencia entre ellos en cuanto a la eliminación de proteínas por parte del irrigante, siendo el Grupo V (control positivo), en donde se obtuvo mayor cantidad de proteínas (Media de 556 nm), y el Grupo I (control negativo) en donde menos proteínas se obtuvo (Media de 59,33 nm).

Tabla 2. Media de eliminación de proteínas para cada grupo experimental

Grupos	Media
I (H2O)	59.33 nm
II (SESI+Vinagre de Manzana)	77.93 nm
III (SESI+EDTA al 17%)	354.26 nm
IV (NaClO+ Vinagre de Manzana)	263.53 nm
V (NaClO al 5,25+EDTA al 17%)	556 nm

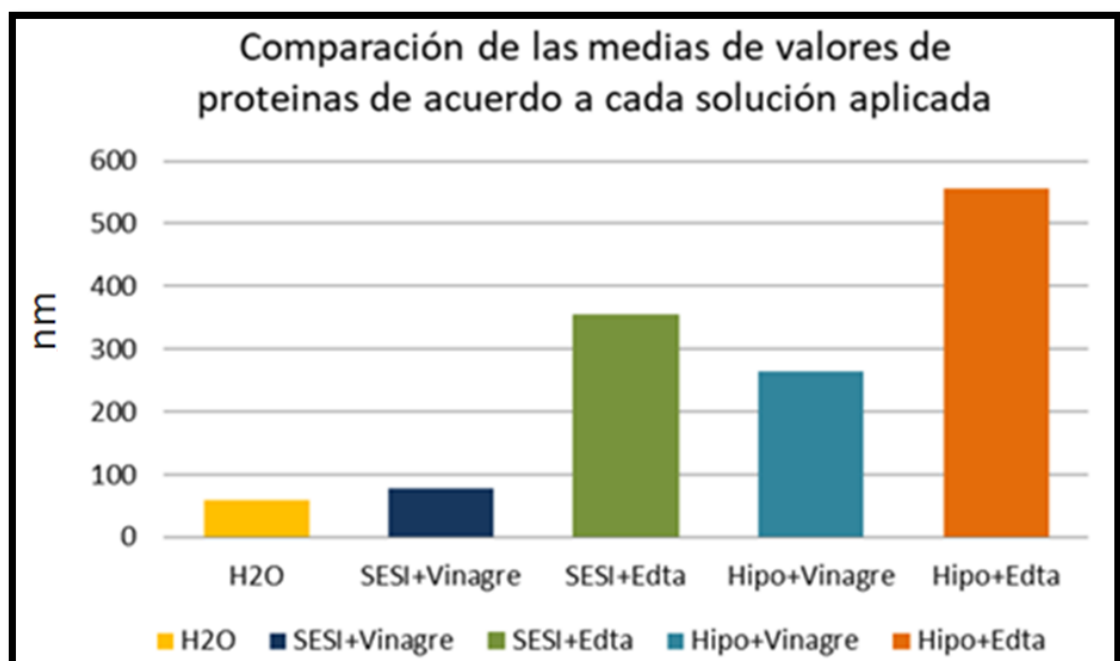


Grafico 1. Media de eliminación de proteínas

Teniendo en cuenta la media de la eliminación de proteínas de cada grupo (**Tabla 2 y Grafico 1**), las asociaciones irrigadoras del grupo V (NaClO 5,25+EDTA), tendrían propiedades antibacterianas mayores por su capacidad de liberar proteínas de las paredes del CR. Los irrigantes del grupo III (SESI+EDTA) también tendrían propiedades antibacterianas aunque en menor medida que los del Grupo V. El H2O destilada que se utilizó como irrigante en el grupo I (control negativo), tendría nula o escasa capacidad antibacteriana.

1.2 Análisis de Varianza unidireccional (ANOVA), la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer sobre las proteínas.

Se observan diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos de $P < 0.001$, excepto entre el grupo I (H2O) y el Grupo II (SESI+VINAGRE) de $P > 0.05$, como se observa en el **Tabla 3**.

Tabla 3. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer.

Comparación	Diferencia de medias	q	P valor
H2O vs SESI+ViNAGRE	-18.600 nm	1.872	$P > 0.05$
H2O vs SESI+EDTA	-294.93 nm	29.679	$P < 0.001$
H2O vs NaClO 5,25+VINAGRE	-204.20 nm	20.548	$P < 0.001$
H2O vs NaClO 5,25+EDTA	-496.67 nm	49.979	$P < 0.001$
SESI+ViNAGRE vs SESI+EDTA	-276.33 nm	27.807	$P < 0.001$
SESI+ViNAGRE vs NaClO 5,25+VINAGRE	-185.60 nm	18.677	$P < 0.001$
SESI+ViNAGRE vs NaClO 5,25+EDTA	-478.07 nm	48.107	$P < 0.001$
SESI+EDTA vs NaClO 5,25+VINAGRE	90.733 nm	9.130	$P < 0.001$
SESI+EDTA vs NaClO 5,25+EDTA	-201.73 nm	20.300	$P < 0.001$
HIPO+VINAGRE vs NaClO 5,25+EDTA	-292.47 nm	29.431	$P < 0.001$

Esta diferencia no significativa entre los grupos I y II, evidencia que el grupo II (SESI+ViNAGRE) tendría escasa capacidad de eliminación de proteínas y por lo tanto, menores propiedades antibacterianas, ya que el grupo I es donde se utilizó como irrigante el H₂O destilada que no tiene ningún tipo de principio activo.

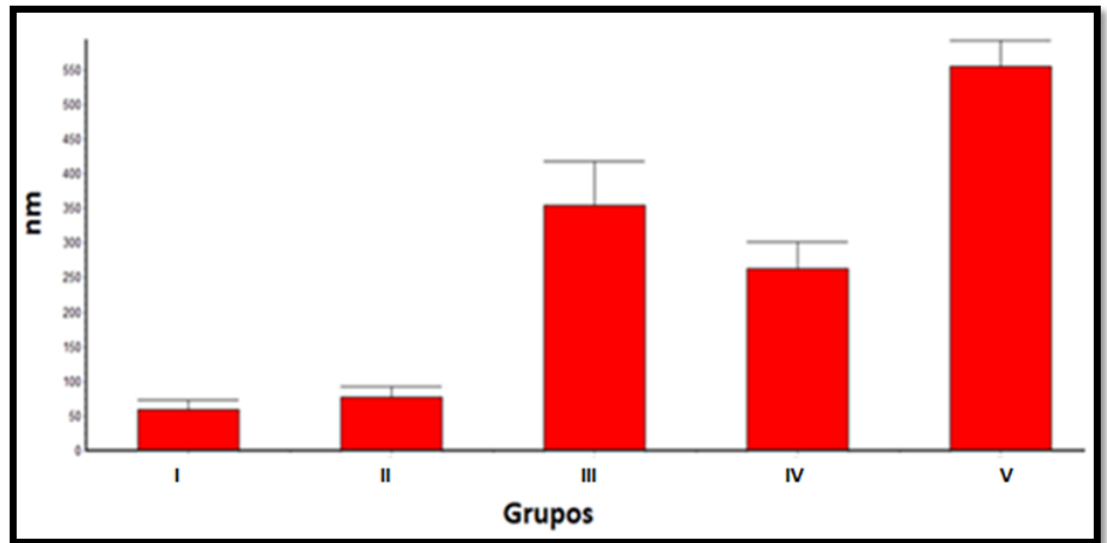


Grafico 2. Media y desvío estándar de eliminación de proteína por cada grupo.

En el **grafico 2** se observa la media con su correspondiente desvío estándar para la eliminación de proteínas en cada grupo experimental. En donde se manifiesta poca dispersión de datos en todos los grupos, excepto en el grupo III donde se registran los mayores valores de desvío estándar.

2. Análisis de las micro-fotografías

2.1 Análisis de los resultados de la observación de las microfotografías obtenidas en el microscopio electrónico de barrido

Para analizar las micro-fotografías de los diferentes grupos se utilizó el programa estadístico InfoStat para realizar las pruebas no paramétricas, las Prueba de Kruskal-Wallis y Prueba de Mann-Whitney.

2.2 Prueba de Kruskal-Wallis

A través de esta prueba estadística observamos (**Tabla 4**), que hubo diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos de irrigantes, esto estaría indicando que hubo diferencias en la limpieza de las paredes del CR. Para comprender en que grupo existió mayor limpieza, se debe tener en cuenta las categorías con las cuales se clasificaron las micro-fotografías de acuerdo a la limpieza que presentaban.

Categorías de limpieza:

- 1= Ausencia de barro dentinario (BD) con todos los túbulos abiertos,
- 2= Mínima cantidad de BD con más del 75% de túbulos abiertos;
- 3= Moderada cantidad de BD con más del 50% de túbulos abiertos;
- 4= Gran cantidad de BD con solo del 25% de túbulos abiertos;
- 5= La capa residual de BD cubre toda el área.

Todo lo que se acerque a la categoría 1 sera lo que mas elimino BD y todo lo que se acerque a la categoría 5 sera lo que menos capacidad de eliminación del smear layer tuvo.

Tabla 4. Análisis Prueba de Kruskal Wallis entre todos los Grupos.

Variable	Grupos	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Categorías 1	1	15	4,93	0,26	5,00	58,71	<0,0001
Categorías 2	2	15	3,80	0,68	4,00		
Categorías 3	3	15	1,60	0,51	2,00		
Categorías 4	4	15	2,53	0,52	3,00		
Categorías 5	5	15	1,60	0,51	2,00		

Teniendo en cuenta las categorías de limpieza y la Media de los Grupos (**Tabla 4**) que se muestran en la **Gráfico 3** se puede observar que en el grupo I se consiguió una limpieza mas deficiente de las paredes del CR (Media 4,93), a diferencia del Grupo V donde se obtuvo la mejor limpieza (Media 1,60).

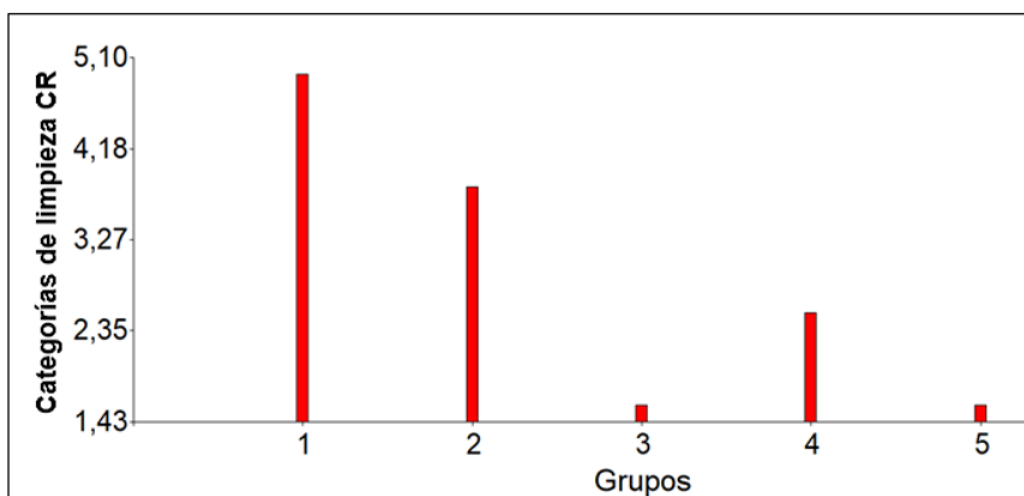


Gráfico 3. Eliminación de BD en cada grupo experimental de acuerdo a las categorías.

Para poder determinar de forma precisa la limpieza de las paredes del CR producida por los irrigantes de cada grupo se debe comparar individualmente cada uno de ellos con el grupo de control positivo.

Antes de comparar los grupos con el grupo V, debemos determinar cuanta diferencia existió entre el grupo de control negativo y el de control positivo.

2.3 Pruebas de Mann-Whitney para variables independientes

Tabla 5. Prueba de Mann-Whitney entre los Grupos I y V.

Clasificación	Variable	N	Media	DE	W	P
Grupo I	Categorías	15	4,93	0,26	345,00	<0,0001
Grupo V	Categorías	15	1,60	0,51		

En la **tabla 5** se puede apreciar que existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo I y el grupo V ($4,93 \pm 0.26$, $1,60 \pm 0.51$), lo que estaría indicando que la asociación de Irrigantes del grupo control positivo fue muy eficiente en la limpieza de las paredes del CR a diferencia del grupo I donde la limpieza fue muy pobre o deficiente.

Con estos resultados se puede afirmar que todos los grupos que se acerquen o igualen a la limpieza que obtuvo el grupo V serán considerados asociaciones válidas para utilizarlas como Irrigantes en endodoncia.

Tabla 6. Prueba de Mann-Whitney entre los Grupos II y V.

Clasificación	Variable	N	Media	DE	W	P
Grupo II	Categorías	15	3,80	0,68	340,50	<0,0001
Grupo V	Categorías	15	1,60	0,51		

En la **tabla 6** observamos que existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo II (SESI+VINAGRE) y el grupo V (NaClO al 5,25%+EDTA al 17%) (3.80 ± 0.68 , 1.6 ± 0.51), lo que nos indica que esta asociación tendría poca capacidad de limpiar y eliminar el BD de las paredes del CR.

Tabla 7. Prueba de Mann-Whitney entre los Grupos III y V.

Clasificación	Variable	N	Media	DE	W	P
Grupo III	Categorías	15	1,60	0,51	332,50	<0,9999
Grupo V	Categorías	15	1,60	0,51		

En la **tabla 7** observamos que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los Irrigantes del grupo III y el grupo de control positivo (1.60 ± 0.51 , 1.60 ± 0.51), lo que nos indica que se podría utilizar una irrigación en base a las sustancias SESI y EDTA al 17% de forma alternada y obtendríamos una limpieza y eliminación del BD similar a la del grupo V.

Tabla 8. Prueba de Mann-Whitney entre los Grupos IV y V.

Clasificación	Variable	N	Media	DE	W	P
Grupo IV	Categorías	15	2,53	0,52	313,50	<0,0002
Grupo V	Categorías	15	1,60	0,51		

En la **tabla 8** observamos que hay diferencias estadísticamente significativas entre el grupo IV y el grupo V (2.53 ± 0.52 , 1.60 ± 0.51).

Del análisis de las proteínas obtenidas por el espectrofotómetro que se realizó con pruebas paramétricas (ANOVA), utilizando el programa el GraphPad InStat 3 (Trial), podemos decir que hubo diferencias significativas entre todos los grupos estudiados. Si tenemos en cuenta la Media para observar en que grupo se obtuvo la mayor eliminación de proteínas de las paredes del CR se observa que fue el grupo V, control positivo.

Si bien los Irrigantes del grupo III SESI y EDTA al 17% no pudieron igualar la cantidad de proteínas obtenidas por el grupo control positivo, en nuestro estudio fue el segundo grupo que más proteínas obtuvo, por lo tanto se puede decir que no tiene la misma capacidad de antibacteriana que el grupo V por su menor capacidad de eliminar proteínas, pero si tiene una capacidad relativa, por lo tanto se debe tener en cuenta para su uso en la clínica diaria, teniendo en cuenta que la SESI a diferencia del NaClO es totalmente inocua y biocompatible con los tejidos, dando las garantías necesarias para su utilización sin los peligros de citotoxicidad del NaClO.

También se encontró que no existió diferencia estadísticamente significativa entre los irrigantes del grupo II formado por la SESI y el vinagre de manzana y el grupo I de control negativo formado por el H2O destilada, lo que nos indica

que los Irrigantes del grupo II utilizados de forma alternada tendrían nula o muy poca capacidad antibacteriana.

De las microfotografías obtenidas del MEB y analizadas con pruebas no paramétricas de Prueba de Kruskal-Wallis para comparar todos los grupos entre sí y la Prueba de Mann-Whitney para comparar los grupos de a pares, utilizando el programa InfoStat, los resultados indican que los grupos que eliminaron más BD y dejaron más limpias las paredes del CR fueron el grupo V (NaClO al 5,25+EDTA al 17%) de control positivo y el grupo III (SESI+EDTA al 17%). Mientras que en los grupos I, II y IV, hubo menos eliminación del BD, aunque el grupo IV presentó mejor efectividad que el grupo I y II.

Con estos resultados obtenidos se rechaza la hipótesis planteada y se acepta la hipótesis nula, ya que no existió diferencias en la limpieza de las paredes del CR utilizando las SESI asociadas al EDTA al 17% por sobre el NaClO al 5,25% en sociedad con el EDTA al 17%.

VII. DISCUSIÓN

Una correcta combinación de sustancias irrigadoras para la limpieza de las paredes del CR eliminando la capa de BD es fundamental para el éxito de todo tratamiento de conducto, Morago et al.⁶⁵, evaluó la influencia de la capa de BD sobre la actividad antibacteriana del NaClO, ya sea solo o combinado con ácido etidróico (AE), contra bacterias en túbulos dentinarios infectados, llegando a la conclusión que la presencia del smear layer reducía la actividad antimicrobiana del NaClO al 2,5%. Estos resultados confirman la importancia de eliminar el BD para optimizar el efecto de los agentes antimicrobianos. La eliminación de la smear layer también mejora la penetración de los medicamentos intraconductos y los selladores en los túbulos dentinarios de los CR, permitiendo de este modo que los materiales ejerzan su actividad antimicrobiana además de obtener una obturación más estrecha en el caso de los selladores. Por eso es fundamental encontrar un sustituto al NaClO, que además de producir la correcta limpieza de las paredes de los CR, ofrezca la propiedad de ser biocompatible con los tejidos y seguro para el paciente.

En muchas oportunidades, un tratamiento endodóntico no se puede culminar en una sola sesión, y se debe colocar una medicación intraconducto entre sesiones, las más conocidas y utilizadas son las pastas a base de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Algunos profesionales no utilizan estas pastas por la creencia de que su eliminación del interior de los CR es incompleta lo que produciría una alteración en la impermeabilidad de la obturación por la mala adaptación del sellador, sobre todo a nivel tercio apical⁶⁶. Otros, han llegado más lejos aún y afirman que no existe ninguna técnica de irrigación que sea capaz de eliminar la totalidad de esta pasta del interior de los CR, que luego de un protocolo estricto de irrigación quedaría en el mejor de los casos al menos 2-4% de medicamento residual en las paredes del conducto^{67,68}. En otros casos dan cifras aún más elevadas que van del 3 al 20%^{69,70}. En la actualidad se conoce

que el mayor responsable de la falta de adaptación de los selladores a las paredes del CR es el Smear layer y no la pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, como lo comprobó Cruz et al. ⁷¹, donde evaluó la influencia del uso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, como medicación en relación a la penetración del sellador AH Plus y MTA Fillapex, y comparo su capacidad de penetración tubular, utilizando microscopía de escaneo láser confocal (CLSM), llegando a la conclusión que el uso del apósito de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, intraconducto no interfirió con la penetración de ninguno de los selladores en el tercio apical del conducto, corroborando que la menor penetración de los selladores en el tercio apical se atribuye a una administración inadecuada de irrigantes y eficacia reducida de las técnicas de eliminación de la capa de BD en la región apical, lo que destaca la importancia de lograr protocolos y combinaciones más precisas de las sustancias irrigadoras para la eliminación del smear layer.

Además, existen metaanálisis que señalan que la eliminación de la capa de frotis mejora la obturación hermética del conducto radicular ⁷².

Mohammadi et al. ⁷³, estudio si existía una mayor eliminación del BD por parte del NaClO activado por puntas ultrasónicas, donde por ninguno de los métodos logro la limpieza absoluta de las paredes, llegando a la conclusión que la limpieza producida por el NaClO estaría garantizada más por sus excelentes propiedades como irrigante, no habiendo un aumento de su efectividad a través del ultrasonido. Aunque otros autores ^{74,75}, han llegado a resultados diferentes, donde la activación del NaClO aumentaría la eliminación del BD como también así su penetración y distribución dentro del sistema de conductos, en comparación con la irrigación simple sin activar. Otros investigadores, insisten que tiene mayor relevancia que la solución esté constantemente en un estado fresco, realizando un recambio constante del NaClO , que la activación con ultrasonido ⁷⁶. Aunque todos estos autores llegaron a resultados diferentes, si coincidieron, en que cuando se usaba únicamente al NaClO como irrigante,

ninguna técnica de irrigación eliminaba completamente los escombros y la capa de BD de todo el sistema de CR. Esto evidencia, que a pesar de que estos estudios no coinciden si es mejor activar o no el NaClO, coinciden en que por sí solo y en ninguna circunstancia puede producir la limpieza completa de la pared del CR, resaltando la importancia de utilizarlo en combinación con otras sustancias que permitan potenciar su acción, como lo son las sustancias quelantes.

Las proteínas constituyen el mayor medio de unión entre las bacterias y las superficies a las cuales se adhieren. El mecanismo para esta unión parece involucrar la interacción de las proteínas de la superficie celular de los microorganismos con el sustrato ⁷⁷. Al determinar que asociación de irrigantes es capaz de eliminar la mayor cantidad de proteínas de las paredes del CR, alcanzando la mayor concentración, nos permitió determinar que asociaciones tendrían la mayor capacidad de eliminar bacterias de las paredes, haciendo que las mismas queden expuestas al arrastre y capacidad antibacteriana de las soluciones de irrigación durante la instrumentación en la terapia endodóntica.

Algunos investigadores compararon el efecto antibacteriano del NaClO al 5,25% en infecciones endodónticas primarias demostrando que no es capaz de eliminar la totalidad de la flora bacteriana en CR contaminados, pero que sí posee excelentes propiedades bactericidas, reduciendo significativamente el número de colonias, sobre todo con el *Enterococcus faecalis* donde demostró excelentes propiedades ⁷⁸⁻⁸⁰. Estos datos coinciden con nuestros hallazgos, en donde los grupos que utilizaron NaClO al 5,25%, se cuantificó la mayor cantidad de proteínas y por lo tanto mayor capacidad de eliminar bacterias.

Pietroski Grando et al. ⁸¹, compararon la efectividad del NaClO al 2,5% asociado con el EDTA al 17%, y el NaClO al 2,5% en combinación con el ácido peracético (AP) al 1%, evaluando las muestras mediante escaneo de microscopía electrónica, llegando a la conclusión que la mayor eliminación del

BD del sistema de CR se produciría utilizando la asociación de NaClO al 2,5% y EDTA al 17%, o Patil et al.⁸², utilizaron el NaClO al 5,25% en combinación con el EDTA al 17%, más un surfactante y lo compararon con “Chloroquick” que es una nueva formulación de AE al 18% con NaClO al 5%, y llegaron a la conclusión que el grupo del NaClO al 5,25% en combinación con el EDTA al 17%, más un surfactante fue el más efectivo en la eliminación del BD. Estos resultados, concuerdan con lo observado en nuestro trabajo, en donde el grupo que presentó la mayor propiedad de eliminación del BD, fue en el grupo V utilizando como irrigantes el NaClO al 5,25% en combinación con el EDTA al 17%.

El NaClO, a pesar de ser el irrigante más usado, más probado y que cumple con la mayor cantidad de requisitos de un irrigante ideal, posee una desventaja significativa para el clínico endodóntico, su alta toxicidad para los tejidos periapicales y para el paciente mismo, porque a pesar de todas las maniobras preventivas, éste puede llegar a extravasarse hacia la zona periapical en pequeñas cantidades, esto lo demostró Azim et al.⁸³, comparando los volúmenes de irrigante extruidos apicalmente por cinco sistemas de irrigación en un modelo de encaje artificial que simula condiciones clínicas, llegando a la sorprendente conclusión que la extrusión del irrigante a través del ápice durante un tratamiento convencional parece ser inevitable, a menos que se realice una irrigación con presión apical negativa, que no está al alcance de la mayoría de los profesionales por su alto costo. La extravasación de NaClO en las cantidades que se manifiestan en varios estudios, son suficientes para estimular el dolor y dañar los tejidos del paciente, es por esto que es indispensable encontrar un sustituto del NaClO que posea características, propiedades y ventajas similares.

Además de la extravasación del NaClO por fuera del ápice de la PD que sería el accidente que reviste mayor gravedad debido a los signos y síntomas que

produce la misma, como también así a las secuelas físicas y traumáticas para el paciente, pueden ocurrir otros accidentes de distinta gravedad, como ser daños a las mucosas orales, del tracto digestivo o respiratorios por fallos en el aislamiento, salpicaduras al ojo del paciente o del profesional; reacciones alérgicas que se pueden llegar a tornar graves, y daños a las vestimentas debido a la condición blanqueadora de la solución ⁸⁴.

Es por todo lo expuesto que muchos investigadores buscan alguna sustancia que posea las ventajas del NaClO sin su alta toxicidad, es aquí donde se proponen diferentes irrigantes, entre ellos SESI que son muy poco conocidas en odontología y hasta la actualidad fueron poco investigadas en esta área, son utilizadas hace bastante tiempo en el campo de la veterinaria de grandes animales, en medicina son utilizadas para la desinfección de quirófanos, instrumentos, incluso para grandes cirugías de abdomen por sus propiedades higienizantes y su carácter inocuo, que han hecho que empiece a considerarse su mayor utilización en el ser humano, donde los estudios sobre los beneficios del agua electrolizada para la salud son cada vez más frecuentes ⁸⁵.

Según Taberero de Paz, et al ⁵⁷, que realizó una revisión de las posibilidades que ofrece el agua electrolizada como agente de limpieza en los sistemas de producción animal, donde ha sido utilizada con éxito en procesos de desinfección de equipos y como higienizante del agua de bebida, observó interesantes efectos sobre la fisiología y la sanidad animal, así como en el rendimiento y productividad de los animales. El agua electrolizada, puede ser una solución prometedora y eficaz para su empleo habitual en la limpieza, desinfección y demostrado efecto bactericida.

Aunque algunos autores como Rojas et al. ⁸⁶, evaluaron la capacidad antimicrobiana de una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro (OxOral Sterilizing), comparativamente con una solución a base de peróxido de hidrógeno, el Sporox II, donde este último mostró una eficaz actividad

microbicida en contra de *E. faecalis* mientras que OxOral Sterilizing denotó una nula capacidad antimicrobiana en los tiempos sugeridos por sus fabricantes.

Quizás esta nula capacidad encontrada se deba más a una mala calidad del producto que a la falta de capacidad antibacteriana, porque otros investigadores como Zaragoza et al.⁸⁷, compararon el efecto antimicrobiano de OxOral sterilizing, pero esta vez con el ACCUA Aseptic Hp otra solución electrolizada de superoxidación con pH neutro, observando halos de inhibición bacteriana con un promedio de 12 mm con ACCUA Aseptic Hp y una nula inhibición del crecimiento bacteriano con OxOral Sterilizing.

Algunos atribuyen un menor efecto antibacteriano a las soluciones de superoxidación que otros antisépticos comúnmente utilizados, como Tristán et al.⁸⁸, que determinó la disminución de la carga bacteriana en dentina de cavidades clase I posterior a la aplicación de clorhexidina 2% en comparación con la aplicación de solución de superoxidación con pH neutro, llegando a la conclusión que la clorhexidina al 2% tiene mayor efecto antimicrobiano en la desinfección de cavidades clase I que la solución de superoxidación con pH neutro, sin embargo, encontró una disminución bacteriana y una diferencia estadísticamente significativa en muestras pos-tratamiento para cada uno de los tratamientos evaluados. Esto es comparable a nuestros resultados donde el grupo donde se utilizó la SESI en combinación con EDTA al 17% a pesar de no eliminar la misma cantidad de proteínas que el grupo de control positivo (NaClO al 5,25% en combinación con EDTA al 17%) y por lo tanto tener menor capacidad de eliminar bacterias, si produjo mayor eliminación de proteínas en comparación a los otros grupos y mucho mayor al grupo de control negativo (H₂O destilada), lo que indicaría que no tendría igual capacidad antibacteriana que el NaClO, pero si mucho más que otros Irrigantes, lo que podría llegar a ser una opción para su empleo en la clínica.

Aunque se pudiera encontrar una sustancia con similares características que el NaClO, esta también se debería asociar a otra en la irrigación de los CR, que tuviera la capacidad de eliminar la porción inorgánica del BD para producir una correcta limpieza de las paredes del CR como lo comprobó Elnaghy et al.⁶⁴, donde realizó un estudio evaluando la efectividad del instrumento XP-Endo Finisher sobre la eliminación de escombros y BD en CR curvos después de la instrumentación biomecánica utilizando diferentes activaciones del irrigante, irrigando con NaClO al 2,5% y EDTA al 17% y entre las conclusiones a las que llegaron fue que los grupos tratados con EDTA revelaron una eliminación sustancial de los desechos y la capa de BD, independientemente de la técnica utilizada. Además, exceptuando al grupo de control positivo, los resultados revelaron que, indistintamente de los regímenes de irrigación utilizados, los tercios cervicales estaban significativamente más limpios en comparación con el tercio apical. Este hallazgo, podría atribuirse al mayor diámetro en estas áreas, exponiendo la dentina a un mayor volumen de irrigantes y facilitando la eliminación de la capa de frotis y la suciedad. Este estudio coincide con nuestros resultados por un lado al observarse mayor limpieza de las paredes del CR en todos los grupos donde se utilizó EDTA al 17% como una de las sustancias irrigadoras, y por el otro en la decisión de no incluir en este estudio los tercios cervicales de las PD, que independientemente de las soluciones utilizadas siempre se presentan con paredes más limpias, proyectando falsos positivos.

Otros estudios avalan estos resultados, Attur et al.⁸⁹, comparó y evaluó la eficacia del EDTA al 17%, el ácido maleico (AM) al 7% y la clorhexidina al 2% en la eliminación de la capa de BD después de la preparación quimiomecánica utilizando para su observación el MEB y llegó a la conclusión que el EDTA al 17% elimina eficientemente la capa de smear layer de las paredes del CR, pero también que éste se ve afectado en sus acciones en los conductos curvos o

muy estrechos, como lo comprobaron en su investigación Zarei et al.⁹⁰. Esto coincide con nuestros resultados donde la mayor limpieza de las paredes se obtuvo en los grupos donde se utilizó EDTA al 17% combinado con otra sustancia, además para realizarlo se tuvo en cuenta la variación que podían tener los Irrigantes en CR curvos o muy estrechos, definiendo en los criterios de inclusión y exclusión que las muestras debían ser PD con conductos rectos y permeables al pasaje de una lima K N° 10, además de haber excluido en esta investigación los tercios apicales debido a su complejidad y posible presencia de una capa de BD incluso después de cualquier tipo de irrigación que podría influir en la interpretación de los resultados obtenidos como lo manifestó Barac et al.⁹¹ en su investigación.

Otros autores comprobaron la importancia de la incorporación del EDTA en los distintos protocolos de irrigación, no solo para aumentar la eliminación del BD combinado con el NaClO, sino también para producir una correcta eliminación de Ca(OH)₂, que se encuentra en las pastas de medicación intraconducto colocadas entre sesiones y que deben ser correctamente eliminadas antes de obturar⁹². Topçuoğlu et al.⁹³, señaló que la combinación de estos irrigantes (NaClO, y EDTA) mejoró su efectividad en la eliminación de Ca(OH)₂.

Lo Giudice et al.⁹⁴, estudiaron la limpieza de las paredes del CR utilizando diferentes protocolos de irrigación con EDTA al 17% activada y sin activar por distintos mecanismos asociado a diferentes sustancias, donde independientemente de la activación o no todos los grupos donde se utilizó el EDTA obtuvieron paredes más limpias, lo que coincide con nuestra investigación.

Muchos productos comerciales poseen entre sus componentes al EDTA, como el Largal Ultra (EDTA 15% + cetrimida 0,75%), Septodont (Saint-Maur-des-fosses, Francia) y el Smear Clear (Sybron Endo, Orange, CA, EE. UU.) (EDTA al 17%, cetrimida y un tensoactivo especial), donde todos han demostrado una

correcta eliminación del BD ⁹⁵. En este estudio se utilizó EDTA al 17% fabricado por el Laboratorio Tedequim S.R.L., aunque es posible prepararlo de forma personalizada, autores como Penukonda et al. ⁹⁶, evaluaron la efectividad del EDTA personalizado, para eliminar la capa de BD de los tercios coronal, medio y apical de los conductos radiculares en comparación con el EDTA fabricado por las compañías, utilizando un MEB para el estudio llegaron a la conclusión que el EDTA personalizado promete ser una alternativa al EDTA fabricado por las compañías, ya que es efectivo, económico, fácil de preparar y puede usarse en la práctica diaria como un irrigante eficaz del conducto radicular.

Otra ventaja del EDTA no muy conocida, es que su uso después de NaClO produce un aumento en los valores de humectabilidad por una disminución en la tensión superficial de la dentina, en comparación con el uso solo de NaClO. Este aumento de la humectación, sumado a la eliminación del BD mejora la adaptación de distintos materiales como ser los selladores endodónticos, sobre todo los que poseen en su composición una base de resina, las cuales necesitan de una dentina seca pero humectada, no desecada, y con baja tensión superficial para una correcta adaptación ⁹⁷. Aunque esto sigue siendo controversial ya que en otra investigación hallaron que el EDTA al 17%, a pesar de remover efectivamente la capa de frotis de la superficie del CR no promovía un aumento en la fuerza de adhesión de los selladores Endodónticos, sin embargo, el estudio se realizó en discos de dentina del tercio medio de la raíz de dientes extraídos y esto puede haber interferido en los resultados, debido a que está muy alejado de la realidad clínica ⁹⁸.

A pesar de las ventajas que posee el uso del EDTA al 17% como irrigante muchos investigadores le atribuyen una excesiva desmineralización o erosión a la dentina intertubular y peritubular de las paredes de los CR, lo que podría crear una superficie muy irregular para que se produzca la correcta adaptación

de los materiales endodónticos durante la obturaciones, lo que conllevaría a posibles filtraciones en la misma ⁹⁹, es por esto que muchos autores han buscado alternativas al EDTA al 17%, entre estas sustancias opcionales se ha propuesto hace varios años el uso de vinagre de manzana (VM). El-Shamy et al. ¹⁰⁰, evaluaron y compararon la eficacia antimicrobiana del vinagre con la de la clorhexidina frente a microorganismos orales seleccionados, comprobando que la actividad antibacteriana del vinagre contra cuatro de cada cinco microorganismos fue superior a la clorhexidina, la cual se considera uno de los agentes antimicrobianos más efectivos. Esta elevada capacidad antibacteriana ya había sido estudiada por Estrela et al. ¹⁰¹ comprobando que el VM, vino blanco, vino tinto y de arroz, tenían una elevada capacidad antimicrobiana sobre el *E. faecalis*. En tanto que, al emplear una suspensión mixta de microorganismos, el mejor resultado fue observado con el VM. Estos resultados no coinciden con nuestra investigación, siendo que los grupos donde se encontraba el VM como uno de los irrigantes fue donde menos proteínas se eliminó, por lo tanto de las sustancias estudiadas como irrigantes el VM sería la de menor capacidad antibacteriana. Esta diferencia observada entre nuestros resultados y las otras investigaciones quizás pueda deberse a que nosotros comparamos al vinagre con sustancias altamente antibacterianas como el NaClO al 5,25% y las demás lo compararon con otras sustancias naturales o antisépticas más débiles como ser la Clorhexidina. No obstante otros autores como Kirchhoff et al. ¹⁰², realizaron una investigación donde evaluaron la eliminación de BD y cuantificaron la liberación de iones de calcio resultante de la irrigación final con diferentes soluciones quelantes (VM, ácido málico al 5%, ácido acético al 5%, EDTA al 17% y agua destilada), la eliminación del BD se analizó a través del MEB, donde hubo una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.001$) entre el EDTA al 17% y las otras soluciones con respecto a la eliminación de la capa de frotis, siendo el comportamiento de los

demás irrigantes similares entre ellos, estos resultados son similares a los obtenidos en nuestra investigación donde se demostró que en todos los grupos donde el EDTA al 17% participo como uno de los irrigantes, se obtuvieron paredes dentinarias más limpias por una mayor eliminación del BD. Estos resultados son diferentes al de otros investigadores donde estudiaron el poder de eliminación del BD de las paredes de los CR utilizandolo como irrigante solo o combinado al vinagre, Zandim et al. ¹⁰³ evaluaron in vitro la capacidad de eliminar el BD de diferentes tipos de vinagres (blanco, manzana, arroz, vino blanco y balsámico) concluyendo que fueron efectivos en la remoción de smear layer contribuyendo a la exposicion de los túbulos dentinarios, donde el vinagre balsámico produjo una menor remoción del smear layer, tambien Ali et al. ¹⁰⁴, evaluó y comparo a través del MEB, la eficacia en la eliminación de la capa de BD de las paredes del CR utilizando dos grupos con concentraciones diferentes de VM (al 5% y diluida) y otro de NaClO al 2,5% conjuntamente con EDTA al 17%, llegando a la conclusión que el grupo irrigado con VM al 5% fue el que presento la mayor eliminación del BD del CR en su totalidad, habiendo diferencia estadísticamente significativa con los demás grupos, mientras que la eliminación del BD del grupo de vinagre diluido fue similar al grupo de NaClO al 2,5% asociado al EDTA 17%.. Estos resultados son diferentes a los observados en esta investigación, donde los grupos donde se utilizó VM fue donde menos se produjo la eliminación del BD, solamente superando al grupo de control negativo irrigado con agua destilada. Quizás esta discrepancia en los resultados de las investigaciones se deba a la diferencia al no asociar al vinagre con otros irrigantes, donde el VM se utilizó en diferentes concentraciones pero como único irrigante, mientras que en esta investigación se asoció al vinagre tanto al NaClO al 5,25% como al SESI, pudiendo presentarse un sinergismo negativo desconocido entre los irrigantes lo que explicaría la mala performance en la limpieza de las paredes por parte del VM.

VIII. CONCLUSIONES

- El NaClO al 5,25% en combinación al EDTA al 17% es la asociación de sustancias irrigantes que más propiedades bactericidas presentan.
- SESI en combinación con EDTA al 17% como irrigantes de los CR fue la segunda asociación con mayor capacidad antibacteriana.
- El VM presenta nula o escasa capacidad antibacteriana.
- SESI en combinación con EDTA al 17% tendría igual capacidad que el NaClO al 5,25% asociado al EDTA al 17%, eliminando el BD de las paredes del CR.
- El VM presenta nula o escasa capacidad de eliminar el BD de las paredes del CR.
- EDTA al 17% sería de suma importancia para magnificar las propiedades, tanto del NaClO al 5,25% como a las de SESI.
- Los resultados nos permiten concluir que la asociación de las SESI en combinación con el EDTA al 17% para la irrigación de los CR, utilizándolas de forma alternada, es una opción válida al momento de seleccionar las sustancias irrigadoras para realizar un tratamiento endodóntico, porque a pesar que su acción limitada sobre los microorganismos no tiene la contundencia del NaClO al 5,25% asociado al EDTA al 17%, posee una gran capacidad de eliminar el BD, dejando paredes limpias, y al mismo tiempo posee la ventaja de su nula citotoxicidad y su gran biocompatibilidad con los tejidos periapicales de las PD.

IX. RESUMEN:

La irrigación del sistema de conductos radiculares es parte fundamental del tratamiento endodóntico, llevándose a cabo a través de agentes químicos que promueven el arrastre, mantienen la humedad, disuelven y actúan sobre la flora bacteriana presente.

El NaClO es el irrigante más utilizado en endodoncia debido a que es el que cumple con la mayor cantidad de requisitos de un irrigante ideal, a pesar de esto es incapaz de disolver por sí solo al BD o smear layer, es por ello que se lo utiliza en combinación con quelantes como el EDTA al 17% que tiene la propiedad de atrapar iones calcio y producir la desmineralización. Además el NaClO altamente tóxico para los tejidos, pudiéndose producir accidentes durante los tratamientos endodónticos. En búsqueda de sustancias que tengan similares propiedades que el NaClO y el EDTA, con sus ventajas pero sin sus desventajas o efectos tóxicos para el organismo, aparecen las SESI y las sustancias naturales como los vinagres, entre ellos el de manzana. El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar la limpieza de las paredes del CR que se obtiene utilizando diferentes sustancias irrigadoras.

Se establecieron 5 grupos experimentales:

Grupo I: H₂O destilada (como grupo control negativo)

Grupo II: SESI + Vinagre de manzana

Grupo III: SESI + EDTA al 17%

Grupo IV: NaClO 5,25% + Vinagre de manzana

Grupo V: NaClO al 5,25% + EDTA al 17% (como grupo control positivo)

Se seleccionaron 75 premolares humanos con criterios de inclusión y exclusión, y se los distribuyó de forma aleatoria entre los grupos.

Se realizó la apertura para acceso endodóntico en todas las piezas dentaria, y se instrumentó a través de la técnica mixta, irrigando con 20 ml de irrigante cada PD (10 ml de cada uno). Se tomó 10 ml de cada muestra, se lo colocó en

tubos de ensayo, se centrifugaron por 10 minutos, y utilizando el reactivo Proti U/LCR del laboratorio Wiener para la determinación de proteínas en orina y líquido cefalorraquídeo, se realizó la lectura en un Espectrofotómetro, donde los resultados obtenidos fueron consignados a una planilla para luego realizar una base de datos.

Luego se procedió a cortar en dos mitades la porción radicular para ser examinadas con el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) de la UNNE donde se analizó la cantidad de sustrato dentinario residual (BD) depositado en las paredes del CR, esto se realizó a través de categorías de limpieza y un solo operador calibrado.

Los datos fueron analizados con pruebas paramétricas (ANOVA) y con pruebas no paramétricas (Prueba de Kruskal-Wallis y Prueba de Mann-Whitney), para esto se utilizaron dos programas, el GraphPad InStat 3 (Trial), para las paramétricas y el InfoStat para las no paramétricas.

Del análisis de proteínas, el grupo V fue donde mayor concentración se obtuvo, por lo tanto, es el que mayor capacidad antibacteriana tendría, seguido del grupo III.

Del análisis de las micro-fotografías obtenidas al MEB, el grupo III y el grupo V se presentaron similares en cuanto a la eliminación del BD, consiguiendo la mayor limpieza de las paredes. Los demás grupos eliminaron de forma deficiente el BD.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que la asociación de SESI en combinación con EDTA al 17% podría ser una alternativa válida para reemplazar al NaClO 5,25% en combinación con el EDTA al 17%, con la ventaja de no tener la alta citotoxicidad de las últimas.

X. BIBLIOGRAFÍA:

- 1) Boutsoukis C. Root canal irrigation: beyond the tsunami. *Endodontic Practice Today*. 2019; 13(2):87-88.
- 2) Gopikrishna V, Ashok P, Kumar ARP, Narayanan LL. Influence of temperature and concentration on the dynamic viscosity of sodium hypochlorite in comparison with 17% EDTA and 2% chlorhexidine gluconate: An in vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*. 2014;17(1):57-60. doi:10.4103/0972-0707.124142.
- 3) Eugeniu MC, Radu C, Vlad P. Chlorhexidine as Endodontic Cleaning Solution Compared to Sodium Hypochlorite: An In Vivo Study. *Int J Dent Med Spec*. 2015;2(1):2-6.
- 4) Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dental Clinics Of North America*. 2010; 54 (2):291-312. doi:10.1016/j.cden.2009.12.001
- 5) Gulabivala K, Patel B, Evans G, NG YL, Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *Endodontic Topics*. 2005; 10:103-22
- 6) Hübscher W, Barbakow F, Peters O. Root-canal preparation with FlexMaster: canal shapes analysed by micro-computed tomography. *Int Endod J*. 2003; 36:740-747.
- 7) Peters O. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: A of canal anatomy on final shape analysed by microCT. *Int Endod J* 2003; 36: 86–92.
- 8) Andrade Junior CV, Batista RM, Marilia Marceliano Alves M, Ferreira Alves FR, Leal Silva EJM. Efficacy of a new activation device in irrigant penetration into simulated lateral canals. *Eur Endod J*. 2016; 1 (2): 2-5.
- 9) Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K. Blackwell Science, Ltd Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *Int Endod J*. 2001; 34: 113-119.

- 10) Davoudi A, Razavi SA, Mosaddeghmehrijardi MH, Tabrizizadeh M. The Effect of *Fragaria vesca* Extract on Smear Layer Removal: A Scanning Electron Microscopic Evaluation. *Iranian endodontic journal*. 2015;10(3): 204-7.
- 11) Sharma G, Kakkar P, Vats A. A comparative SEM investigation of smear layer remaining on dentinal walls by three rotary NiTi files with different cross sectional designs in moderately curved canals. *J Clin Diagn Res*. 2015; 9(3):ZC43–ZC47. doi: 10.7860/JCDR/2015/11569.5710
- 12) Egde RJ, Bapna K. Comparison of removal of endodontic smear layer using ethylene glycol bis (beta-amino ethyl ether)-N, N, N', N'-tetraacetic acid and citric acid in primary teeth: A scanning electron microscopic study. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2016;7(2):216-220. doi:10.4103/0976-237X.183064.
- 13) Vlad R, Kovacs M, Sita D, Pop M. Comparison Between Different Endodontic Irrigating Protocols In Smear Layer Removal From Radicular Dentin. *Eur Sci J*. 2016; 12 (15): 38-43
- 14) Leal da Silva EJN, Herrera DR, de Lima CO, Fidel SR, Sassone LM. The effect of XP-endo Finisher and ultrasonic irrigation on the push-out bond strength of a resin sealer to the root dentine. *Endodontic Practice Today*. 2019;13(1):41-47.
- 15) Zand V, Milani AS, Yavari HR, Majidi AR. The Effects of Different Agitation Techniques of Canal Irrigant on Tubular Penetration of a Bioceramic Sealer. *Iranian Endodontic Journal*. 2019;14(4):289-295. doi:10.22037/iej.v14i4.25548.
- 16) Jayakumaar A, Ganesh A, Kalaiselvam R, Rajan M, Deivanayagam K. Evaluation of debris and smear layer removal with XP-endo finisher: A scanning electron microscopic study. *Indian Journal of Dental Research*. 2019;30(3):420-423. doi:10.4103/ijdr.IJDR_655_17.

- 17) Topbas C, Adiguzel O. Endodontic Irrigation Solutions: A Review. *International Dental Research*. 2017;7(3):54-61. doi:10.5577/intdentres.2017.vol7.no3.2.
- 18) Boutsoukis C, Lambrianidis T, Kastrinakis E. Irrigant flow within a prepared root canal using various flow rates: a Computational Fluid Dynamics study. *Int.Endod J*. 2009; 42:144–155.
- 19) Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland K, Shabahang S. Efecto de diferentes concentraciones de hipoclorito sódico sobre la capacidad de eliminación del barrillo dentinario del MTAD. *Rev Esp Endod*. 2003; 21 (3): 179-190
- 20) 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.
- 21) Ghorbanzadeh S, Loodaricheh SA, Samizade S, Zadsirjan S. Irrigants in endodontic treatment. *Int J Contemp Dent Med Rev*. 2015; 2015:Article ID: 030515. DOI: 10. 15713/ins. ijcdmr. 77.
- 22) Polineni S, Bolla N, Mandava P, Vemuri S, Mallela M, Gandham VM, et al. Marginal adaptation of newer root canal sealers to dentin: A SEM study. *J Conserv Dent*. 2016;19:360-3.
- 23) Palazzi F, Morra M, Mohammadi Z, Grandini S, Giardino L. Comparison of the surface tension of 5.25% sodium hypochlorite solution with three new sodium hypochlorite-based endodontic irrigants. *International Endodontic Journal*. 2012; 45(2):129-135. doi:10.1111/j.1365-2591.2011.01952.x.
- 24) Lahoud Salem V, Galvéz Calla L H. Irrigación endodóntica con el uso de hipoclorito de sodio. *Odontol. Sanmarquina*. 2006; 9 (1): 28-30
- 25) Himel V T, Mcspadden Jt, Goodis H E. Instrumentos, Materiales y Dispositivos. En: Cohen S, Hargreaves K M. *Vías de la Pulpa*. 9º ed. Madrid: Elsevier; 2008. P. 239-295

- 26) Leonardo MR. Preparación biomecánica de los conductos radiculares. Definición y conceptualización, finalidad, importancia. Recursos convencionales para su aplicación: medios químicos (soluciones irrigantes); medios físicos (irrigación, aspiración e inundación). En: Hecht Milton. Endodoncia. Tratamiento de conductos radiculares. Principios técnicos y biológicos. Vol 1. 1° Edición. Sao Paulo, Brasil: Artes Médicas; 2005. P. 435-480
- 27) Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CRA, Pécora JD, Sousa Neto MD. Antimicrobial Effect of 2% Sodium Hypochlorite and 2% Chlorhexidine Tested by Different Methods. *Braz Dent J.* 2003;14(1): 52-62
- 28) Rossi-Fedele G, Doğramaci EJ, Guastalli AR, Steier L, de Figueiredo JAP. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *Journal Of Endodontics.* 2012;38(4):426-431. doi:10.1016/j.joen.2012.01.006.
- 29) Giardino L, Morra M, Becce C, Pappen FG, Mohammadi Z, et. al. Comparative wettability of different sodium hypochlorite solutions. *G Ital Endod.* 2012; 26: 57-62
- 30) Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian Dental Journal.* 2002;13(2):113-117.
- 31) Bosch-Aranda ML, Canalda-Sahli C, Figueiredo R, Gay-Escoda C. Complications following an accidental sodium hypochlorite extrusion: A report of two cases. *Journal Of Clinical And Experimental Dentistry.* 2012;4(3):e194-e198. doi:10.4317/jced.50767.
- 32) Generali L, Campolongo E, Consolo U, Bertoldi C, Giardino L, Cavani F. Sodium hypochlorite penetration into dentinal tubules after manual dynamic agitation and ultrasonic activation: a histochemical evaluation. *Odontology.* 2018;106(4):454-459. doi:10.1007/s10266-018-0355-4.

- 33) Balandrano Pinal F. Soluciones para irrigación en endodoncia: hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina. Revista CCDCR. 2007; 3 (1): 11-14
- 34) Cohen. Rurns R. Vias de la pulpa. 2001 8ª ed. Madrid España. p. 536 -41.
Ingle J. Endodoncia. 3 Edición. Editorial Mac Graw Hill. Mexico.1993. Leonardo M. Endodoncia: Tratamiento de conductos radiculares-principios técnicos y biológicos. Vol.1.p. 435 -476.
- 35) Carson KR,. Goodell G, Scott B. McClanahan. Comparison of the Antimicrobial Activity of Six Irrigants on Primary Endodontic Pathogens. J Endod.2005;31(6):471-73.
- 36) Fahmy SH, El Gendy AAH, El Ashry SH. Dentin wettability enhancement for three irrigating solutions and their effect on push out bond strength of gutta percha / AH Plus. Journal Of Clinical And Experimental Dentistry. 2015;7(2):e237-e242. doi:10.4317/jced.51865.
- 37) Ingle J. Endodoncia. 3 Edición. Editorial Mac Graw Hill. Mexico.1993. Leonardo M. Endodoncia :Tratamiento de conductos radiculares-principios técnicos y biológicos. Vol.1.p. 435 -476.
- 38) Silva PV, Guedes DFC, Nakadi FV, Pécora JD, Cruz FAM. Chitosan: a new solution for removal of smear layer after root canal instrumentation. International Endodontic Journal. 2013;46(4):332-338. doi:10.1111/j.1365-2591.2012.02119.x.
- 39) Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics – a review. International Endodontic Journal. 2010;43(1):2-15. doi:10.1111/j.1365-2591.2009.01627.x
- 40) Parmar G, Chhatariya A. Demineralising effect of EDTA at different concentration and pH – A Spectrophotometer study. Endodontology. 2004: 16:54-7
- 41) Calt S., Serper A. Efectos del EDTA que dependen del tiempo en la estructura dentinaria. J Endod. 2002; 28 : 17-19.

- 42) González PG, Liñán FM, Ortiz VM, Ortiz VG, Del Real LA, Guerrero-Lara G. Estudio comparativo in vitro de tres acondicionadores de dentina para evaluar apertura de los túbulos dentinarios en conductos radiculares. *Revista Odontológica Mexicana*. 2009; 13 (4): 217-233.
- 43) Gopikrishna V, Venkateshbabu N, Krithikadatta J, Kandaswamy D. Evaluation of the effect of MTAD in comparison with EDTA when employed as the final rinse on the shear bond strength of three endodontic sealers to dentine. *Aust Endod J*. 2011; 37: 12–17
- 44) Gu XH, Mao CY, Kern M. Effect of different irrigation on smear layer removal after post space preparation. *J Endo*. 2009; 35: 393-6.
- 45) Gupta PK, Mahajan UP, Gupta K, Sheela N. Comparative evaluation of a new endodontic irrigant-mixture of a tetracycline isomer, an Acid, and a detergent to remove the intracanal smear layer: a scanning electron microscopic study. *J Int Oral Health*. 2015;7(4):1-6.
- 46) Estrela C, Holland R, Bernabé PFE, Souza V, Estrela CRA. Antimicrobial potencial of medicaments used in healing process in dog's teeth with apical periodontitis. *Braz Dent J*. 2004; 15(3): 181-185. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402004000300003>
- 47) Myers RL. *The 100 most important chemical compounds: A reference guide*. Greenwood. 2007;1:352.
- 48) Thacker E. *O vinagre*. São Paulo: Pacific Port Com Ltda; 2000.
- 49) Sundas S, Rao A. Comparative evaluation of chlorhexidine and sodium fluoride mouthwashes on *Streptococcus mutans*. *J Nepal Dent Assoc*. 2011;12:17-21.
- 50) Tehrani MH, Asghari G, Hajiahmadi M. Comparing *Streptococcus* and *Lactobacillus* colony count changes following green tea mouth rinse or sodium fluoride mouth rinse use in children (randomized doubleblind controlled clinical trial). *Dent Res J (Isfahan)*. 2011;8 Suppl 1:S58-63.

- 51) Kudva S, Prabhakar S, Pai V, Tegginamani A. Effects of garlic extract on salivary pH: A clinical study. *Arch Orofac Sci.* 2012;7:1-8.
- 52) Estrela C, Lopes HP, Elias CN, Leles CR, Pécora JD. Limpieza da superfície do canal radicular pelo vinagre de maçã, hipoclorito de sodio, clorhexidina e EDTA. *Rev. APCD*, 2007; 61(2): 117-22
- 53) Niewierowski RS, Scalzilli LR, Morgental RD, Poli de Figueiredo JA, Vier-Pelisser FV, de Borba MG, et. al. Bovine Pulp Tissue Dissolution Ability of Irrigants Associated or Not to Ultrasonic Agitation. *Braz Dent J.* 2015; 26(5): 537-540 <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201300243>
- 54) Kreuter W, and Hofmann H, 1998, Electrolysis: the important energy transformer in a world of sustainable energy, *Int. J. Hydrogen Energy.* 1998; 23(8): 661-666.3
- 55) Durán Vega HC. Soluciones de superoxidación y su evolución tecnológica. *Dol Foro Nal Invest Clín Méd.* 2010; 7(III): 4-8
- 56) Nachón GFJ, Díaz TJ, Rivas EV, González HJS, Nachón GMG, García GF, et al. Esterilización por inmersión. Estudio comparativo entre glutaraldehído al 2%, agua electrolizada superoxidada con pH neutro y solución electrolizada por selectividad iónica con pH neutro. *Rev Med UV.* 2008; 8 (2): 5-10
- 57) Tabernero de Paz MJ, Bodas R, Bartolomé D, Posado R, García JJ, y Olmedo S. Agua electrolizada como higienizante en producción animal: efectos en sanidad y productividad. *Arch. Zootec.* 2013; 62:13-23.
- 58) Nachón García FJ, Díaz Téllez J, Rivas Espinoza V; González H JS, Nachón MG; García García F, et al. Esterilización por inmersión de instrumental de cirugía laparoscópica. Estudio comparativo entre glutaraldehído al 2%, agua electrolizada superoxidada con pH neutro y solución electrolizada por selectividad iónica con pH neutro. *Cirujano General.* 2010; 32 (4): 226-231

- 59) Barutçigil C, Harorlı OT, Özcan E, Arslan H, Yıldız M. Effects of ethylenediaminetetraacetic acid and sodium hypochlorite on the bond strength of bonding agents to pulp chamber lateral walls. *J Dent Sci.* 2014; 9: 229-234
- 60) Bayram HM, Bayram E, Atakol O. Atomic absorption spectrometry evaluation of calcium ion release from different calcium silicate-based endodontic materials used with new irrigants. *Biomed Res (Aligarh).* 2016:333-336
- 61) Siqueira JJF, Pérez AR, Marceliano AMF, et al. What happens to unprepared root canal walls: a correlative analysis using micro-computed tomography and histology/scanning electron microscopy. *International Endodontic Journal.* 2018;51(5):501-508. doi:10.1111/iej.12753.
- 62) Chhabra N, Gyanani H, Kamatagi L. Smear layer removal efficacy of combination of herbal extracts in two different ratios either alone or supplemented with sonic agitation: An in vitro scanning electron microscope study. *Journal of Conservative Dentistry.* 2015;18(5):374-378. doi:10.4103/0972-0707.164035.
- 63) Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod.* 2003; 29(4):233-9.
- 64) Elnaghy A, Mandorah A, Elsaka S. Effectiveness of XP-endo Finisher, EndoActivator, and File agitation on debris and smear layer removal in curved root canals: a comparative study. *Odontology.* 2017;105(2):178-183. doi:10.1007/s10266-016-0251-8.

- 65) Morago A, Ordinola-Zapata R, Ferrer-Luque CM, Baca P, Ruiz-Linares M, Arias-Moliz MT. Influence of Smear Layer on the Antimicrobial Activity of a Sodium Hypochlorite/Etidronic Acid Irrigating Solution in Infected Dentin. *J Endod.* 2016;42(11):1647-1650. doi: 10.1016/j.joen.2016.07.023.
- 66) Hamdan R, Michetti J, Pinchon D, Diemer F, Georgelin-Gurgel M. The XP-Endo Finisher for the removal of calcium hydroxide paste from root canals and from the apical third. *J Clin Exp Dent.* 2017; 9(7):e855–60. doi: 10.4317/jced.53962
- 67) Lloyd A, Navarrete G, Marchesan MA, Clement D. Removal of calcium hydroxide from Weine Type II systems using photoninduced photoacoustic streaming, passive ultrasonic, and needle irrigation: a microcomputed tomography study. *J Appl Oral Sci.* 2016; 24(6):543–8. doi: 10.1590/1678-775720160234
- 68) Ma J, Shen Y, Yang Y, Gao Y, Wan P, Gan Y, et al. In vitro study of calcium hydroxide removal from mandibular molar root canals. *J Endod.* 2015; 41(4):553–8. doi: 10.1016/j.joen.2014.11.023
- 69) Silva LJM, Pessoa OF, Teixeira MBG, Gouveia CH, Braga RR. Micro- CT evaluation of calcium hydroxide removal through passive ultrasonic irrigation associated with or without an additional instrument. *Int Endod J.* 2015; 48:768–73. doi: 10.1111/iej.12374.
- 70) Galić VO, Stašić JN. Efficacy of different irrigation techniques on calcium hydroxide removal from the root canal. *Serbian Dental Journal / Stomatološki Glasnik Srbije.* 2018;65(3):148-155. doi:10.2478/sdj-2018-0015.
- 71) Cruz ATG, Grecca FS, Piasecki L, Wichnieski C, Westphalen VPD, Carneiro E, et al. Influence of the Calcium Hydroxide Intracanal Dressing on Dentinal Tubule Penetration of Two Root Canal Sealers. *Eur Endod J.* 2017; 2:14.

- 72) Shahravan A, Haghdoost AA, Adl A, Rahimi H, Shadifar F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. *J Endod.* 2007; 33:96–105
- 73) Mohammadi Z, Shalavi S, Giardino L, Palazzi F, Asgary S. Impact of Ultrasonic Activation on the Effectiveness of Sodium Hypochlorite: A Review. *Iranian Endodontic Journal.* 2015;10(4):216-220. doi:10.7508/iej.2015.04.001.
- 74) Urban K, Donnermeyer D, Schäfer E, Bürklein S. Canal cleanliness using different irrigation activation systems: a SEM evaluation. *Clinical Oral Investigations.* 2017;21(9):2681-2687. doi:10.1007/s00784-017-2070-x.
- 75) Mohmmmed SA, Vianna ME, Penny MR, Hilton ST, Mordan NJ, Knowles JC. Investigations into in situ *Enterococcus faecalis* biofilm removal by passive and active sodium hypochlorite irrigation delivered into the lateral canal of a simulated root canal model. *International Endodontic Journal.* 2018;51(6):649-662. doi:10.1111/iej.12880.
- 76) Alturaiki S, Lamphon H, Edrees H, Ahlquist M. Efficacy of 3 different irrigation systems on removal of calcium hydroxide from the root canal: a scanning electron microscopic study. *J Endod.* 2015; 41(1):97–101. doi: 10.1016/j.joen.2014.07.033
- 77) Modrzewska B, Kurnatowski P. Adherence of *Candida* sp. to host tissues and cells as one of its pathogenicity features. *Ann Parasitol.* 2015; 61, 3–9.
- 78) Khedmat S, Fakhari N, Emaneini M, Beigverdi R. Comparison of Antibacterial Effect of Four Irrigation Solutions in Primary Root Canal Infections: A Clinical Study. *Iranian Endodontic Journal.* 2018;13(4):534-539. doi:10.22037/iej.v13i4.17900.
- 79) Santa-Rosa CC, Valente Araújo C, Figueiredo de Carvalho MF, Valente Araújo P. Estudo piloto da análise comparativa da atividade antimicrobiana da PDT e agentes irrigantes em canais radiculares inoculados com *Enterococcus*

faecalis "in vitro." Archives of Dental Science / Arquivos em Odontologia. 2019;55:1-8. doi:10.7308/aodontol/2019.55.e02.

80) Baldasso FER, Roletto L, Silva VDD, Morgental RD, Kopper PMP. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. Braz Oral Res. 2017; 31:e40.

81) Pietroski Grando C, Ferreira Martinez E, Fontana CE, Rocha DGP, Pessoa Stringheta C, da Silveira Bueno CE. Effectiveness of Sodium Hypochlorite plus EDTA Compared with Peracetic Acid in Removing Smear Layer and Killing Enterococcus faecalis. Iranian Endodontic Journal. 2019;14(1):56-62. doi:10.22037/iej.v14i1.22190.

82) Patil PH, Gulve MN, Kolhe SJ, Samuel RM, Aher GB. Efficacy of new irrigating solution on smear layer removal in apical third of root canal: A scanning electron microscope study. Journal of Conservative Dentistry. 2018;21(2):190-193. doi:10.4103/JCD.JCD_155_17.

83) Azim AA, Aksel H, Margaret Jefferson M, Huang GT-J. Comparison of sodium hypochlorite extrusion by five irrigation systems using an artificial root socket model and a quantitative chemical method. Clinical Oral Investigations. 2018;22(2):1055-1061. doi:10.1007/s00784-017-2187-y.

84) Topbaş C, Büyükbayram IK, Toker T, Budak N, Subay RK. Endodontik sodyum hipoklorit komplikasyonlarının değerlendirilmesi ve bir olgu bildirisi. Aydın Dental Journal. 2017;3(1):35-42.

85) Shirahata, S.; Hamasaki, T. and Teruya, K. Advanced research on the health benefit of reduced water. Trends Food Sci Technol. 2012; 23: 124-131.

86) Rojas BME, Silva-Herzog FD, González AAM, Oliva RR. Evaluación comparativa de la capacidad antimicrobiana de una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro y una solución a base de peróxido de hidrógeno. Rev ADM. 2013; 70 (4): 183-189

- 87) Zaragoza MMTJ, López BLE, Rodríguez MD. Comparación del efecto antimicrobiano de dos soluciones esterilizantes de Superoxidación con pH neutro. *Odontología Actual*. 2012; 9 (110): 38-40.
- 88) Tristán López JD, Goldaracena Azuara MP; Ramírez Muñoz CA; González Amaro AM, Ramírez García J. *Rev. ADM*. 2015; 72(4): 189-197.
- 89) Attur K, Joy MT, Karim R, Anil Kumar VJ, Deepika C, Ahmed H. Comparative analysis of endodontic smear layer removal efficacy of 17% ethylenediaminetetraacetic acid, 7% maleic acid, and 2% chlorhexidine using scanning electron microscope: An in vitro study. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*. 2016;6:S160-S165. doi:10.4103/2231-0762.189755.
- 90) Zarei M, Javidi M, Afkhami F, Tanbakuchi B, Zadeh MM, Mohammadi MM. Influence of Root Canal Tapering on Smear Layer Removal. *N Y State Dent J*. 2016;82(3):35-8.
- 91) Barac R, Popović J, Živković S, Mitić A, Nikolić M. Ultrastructural analysis of uninstrumented root canal areas following various irrigation regimens. *Serbian Dental Journal / Stomatološki Glasnik Srbije*. 2016;63(2):57-65. doi:10.1515/sdj-2016-0006.
- 92) Chockattu SJ, Deepak BS, Mallikarjun Goud K. Comparison of efficiency of ethylenediaminetetraacetic acid, citric acid, and etidronate in the removal of calcium hydroxide intracanal medicament using scanning electron microscopic analysis: An in-vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*. 2017;20(1):6-11. doi:10.4103/0972-0707.209079.
- 93) Topçuoğlu HS, Düzgün S, Ceyhanli KT, Akti A, Pala K, Kesim B. Efficacy of different irrigation techniques in the removal of calcium hydroxide from a simulated internal root resorption cavity. *Int Endod J*. 2015; 48:309–16. doi:10.1111/iej.12316.

- 94) Lo Giudice G, Lizio A, Giudice RL, et al. The Effect of Different Cleaning Protocols on Post Space: A SEM Study. *International Journal of Dentistry*. 2016; 1-7. doi:10.1155/2016/1907124.
- 95) Bhatia C, Chandak R, Salgar A, Chandak M, Dass A, Saxena A. Comparison of different irrigating solutions on root canal disinfection after mechanical preparation by using scanning electron microscope: An in vitro study. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*. 2015;5(2):65-70. doi:10.4103/2229-5194.173225.
- 96) Penukonda R, Saraf PA, Patil TN, Vanaki SS, Saraf SP. Comparison of smear layer removal using custom made and company made EDTA: An invitro study. *JIDA: Journal of Indian Dental Association*. 2017;11(9):18-25.
- 97) Tartari T, Wichnieski C, Bachmann L, et al. Effect of the combination of several irrigants on dentine surface properties, adsorption of chlorhexidine and adhesion of microorganisms to dentine. *International Endodontic Journal*. 2018; 51(12):1420-1433. doi:10.1111/iej.12960.
- 98) Carvalho NK, Prado MC, Senna PM, Neves AA, Souza EM, Fidel SR, Sassone LM, Silva EJNL. Do smear-layer removal agents affect the push-out bond strength of calcium silicate-based endodontic sealers?. *Int Endod J*. 2017;50(6):612-9.
- 99) Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *J Endod*. 2011; 37:1437- 41. DOI: 10.1016/j.joen.2011.06.005
- 100) El-Shamy FMM, Singh G, Elraih H, Gupta I, Sharawy A. In Vitro Antimicrobial Effectiveness of Vinegar against Oral Microorganisms: Part I. *Journal of International Oral Health*. 2016;8(11):999-1002. doi:10.2047/jioh-08-11-01.
- 101) Estrela CR, Estrela C, Cruz-Filho AM, Pécora JD. Substância ESP: Opção na terapêutica endodôntica. *JBE*. 2005; 5(19):273-9.

102) Kirchhoff AL, Viapiana R, Miranda CES, Neto MDS, Filho AMC. Comparison of the apple vinegar with other chelating solutions on smear layer and calcium ions removal from the root canal. *Indian Journal of Dental Research*. 2014;25(3):370-374. doi:10.4103/0970-9290.138341.

103) Zandim, Daniela Leal, Corrêa, Fernanda Oliveira Bello, Sampaio, José Eduardo Cezar, & Rossa Júnior, Carlos. The influence of vinegars on exposure of dentinal tubules: a SEM evaluation. *Brazilian Oral Research*. 2004; 18(1), 63-68. <https://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242004000100012>

104) ALI AMM, RAAB WHM. Smear layer removal efficiency using apple vinegar: An in vitro scanning electron microscope study. *American Journal of Dentistry*. 2019;32(1):21-26.