

**EFFECTIVIDAD DE LA ACTIVACIÓN ULTRASÓNICA CON BIOSPADA EN
TUBOS DE DENTINA FRENTE A *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, ESTUDIO IN
VITRO**

AUTORES

**DANIELA FERNANDA RUÍZ BELALCÁZAR, KATHERINE CÁRDENAS
RODRÍGUEZ**

**INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA
UNICOC**

**ÁREA DE EDUCACIÓN AVANZADA Y CONTINUADA
POSTGRADO EN ENDODONCIA**

BOGOTÁ ABRIL DE 2023

**EFFECTIVIDAD DE LA ACTIVACIÓN ULTRASÓNICA CON BIOSPADA EN
TUBOS DE DENTINA FRENTE A *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, ESTUDIO IN
VITRO.**

AUTORES

DANIELA FERNANDA RUIZ BELALCÁZAR, KATHERINE CÁRDENAS
RODRÍGUEZ

ASESOR CIENTÍFICO:

Dr. GUSTAVO ADOLFO VELASCO FLECHAS
Odontólogo Especialista en Endodoncia
Universidad Santo Tomás

ASESOR METODOLÓGICO

Dra. SANDRA ELIZABETH AGUILERA ROJAS
Odontóloga Especialista en Semiología y Cirugía Oral
Fundación Universitaria San Martín

ASESOR ESTADÍSTICO

DR. GERARDO ARDILA DUARTE

**INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA UNICOC
ÁREA DE EDUCACIÓN AVANZADA Y CONTINUADA**

POSTGRADO EN ENDODONCIA

BOGOTA, ABRIL DE 2023

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	1
1. Aspectos teórico-científicos.....	3
1.1 Planteamiento del Problema	3
1.2 Justificación	5
1.3 Propósito	7
1.4 Antecedentes	8
1.5 Marco Teórico (Legal, conceptual y teórico)	8
1.5.1 Marco Legal	8
1.5.2 Marco teórico	9
Microbioma del Sistema de Conductos Radiculares.....	9
Microbioma endodóntico en la periodontitis apical primaria.....	9
Microbioma endodóntico en la periodontitis apical secundaria	10
1.5.3 Marco Conceptual	10
<i>Enterococcus faecalis</i>	10
Generalidades.....	10
Prevalencia	11
Factores de Virulencia.....	11
Sustancia de agregación (AS)	12
Adhesinas de superficie.....	12

Feromonas sexuales	12
Gelatinasa	12
Citolisina	13
Irrigantes endodónticos	13
Hipoclorito de Sodio.....	13
Clorhexidina.....	15
Peróxido de Hidrógeno (H ₂ O ₂).....	17
Qmix	17
MTAD	18
Triton	19
Quelantes.....	19
EDTA 17%	19
Ácido cítrico.....	20
Ácido fosfórico.....	21
Nanotecnología	22
Nanopartículas	22
Biospada	23
Irrigación Ultrasónica Pasiva (PUI)	24
1.6 Objetivos	25

1.6.1	Objetivo General	25
1.6.2	Objetivos Específicos	26
1.1	Aspectos Metodológicos	26
1.2	Tipo de Estudio	26
1.3	Objeto de estudio	26
1.4	Material objeto de estudio	26
1.5	Unidad de observación	27
1.6	Muestra	27
1.7	Criterios de selección	27
1.7.1	Criterios de inclusión	27
2.6.2	Criterios de exclusión	27
1.8	Procedimiento	28
1.8.1	Muestra	28
	□ Selección y preparación de la muestra	28
	□ Inoculación de la muestra	29
	Protocolo de irrigación y activación	30
	Evaluación del crecimiento bacteriano (UFC).....	31
	Preparación de muestra para observación mediante SEM.....	31
1.8.2	Operacionalización de variables.....	32

1.8.3	Instrumento de Recolección de datos	32
1.8.4	Procesamiento de la información	34
1.9	Aspectos Éticos	34
1.10	Análisis Estadístico.....	34
1.10.1	Prueba Piloto.....	35
2.	Resultados	36
3.	Discusión	41
4.	Conclusiones.....	44
5.	Recomendaciones.	44
6.	Referencias Bibliográficas	45

LISTA DE TABLAS, GRÀFICAS Y ANEXOS

Tabla 1. Operacionalización de variables	32
Tabla 2. Conteo de UFC por solución irrigante	37
Tabla 3. Análisis descriptivo	38
Tabla 4. Prueba POC HOC de Nemenyi	38
Gráfica 1: Comparación conteo UFC grupos A,B Y C.	39
Gráfica 2: Comparación de la efectividad entre los irrigantes según UFC.....	40
Gráfica 3: Recuento de UFC/ ml y porcentaje de efectividad antimicrobiana posterior al tratamiento	40
Anexo A: Consentimiento informado para la donación de dientes naturales para estudio.....	63
Anexo B. Instrumento de Recolección de Datos.	64
Anexo C: Ficha técnica de Biospada 60	65
Anexo D: Invima Biospada 60.....	66
Anexo E: Evidencias fotográficas.....	67

PÁGINA DE ACEPTACIÓN

El Trabajo de grado “**EFFECTIVIDAD DE LA ACTIVACIÓN ULTRASÓNICA CON BIOSPADA EN TUBOS DE DENTINA FRENTE A *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, ESTUDIO IN VITRO**”. Fue elaborado por **Daniela Fernanda Ruíz Belalcázar** y **Katherine Cárdenas Rodríguez**, como requisito para optar por el título de especialista en **Endodoncia**.

La sustentación se llevó a cabo 10 de Mayo de 2023.

Acta No. XXXXXXXXXXXXX

Dr. Gustavo Velasco Flechas

Asesor Científico

Dra. Sandra Elizabeth Aguilera Rojas

Asesora Metodológica

Dra. Sonia R. Unriza Puin

Directora Centro de Investigación

Colegio Odontológico – CICO (Bogotá)

Dra. Sandra Elizabeth Aguilera Rojas

Directora de Investigación y Gestión del Conocimiento

Institución Universitaria Colegios de Colombia – UNICOC

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo primero a Dios, por permitirnos llegar a este momento tan importante de nuestras vidas, por la sabiduría, valentía y fortaleza para alcanzar nuestro propósito de ser Especialistas. A nuestras madres, Edith y Aydeé por su amor, ejemplo, compañía y apoyo incondicional para lograr esta meta. A nuestra familia y amigos por ser testigo de este proceso y motivarnos diariamente para continuar a pesar de cada obstáculo.

Y a nuestros amores perrunos, Yoshi y Mathi, por su lealtad y cariño hacia nosotras, por soportar nuestra ausencia mientras luchábamos por nuestros sueños.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento especial a la Institución Universitaria Colegios de Colombia, la cual nos abrió sus puertas para formarnos profesionalmente.

Al Doctor Gustavo Velasco, por acompañarnos en el desarrollo de este proyecto, por su apoyo y su amistad.

A la Doctora Claudia Andrea Cruz y su equipo de trabajo del laboratorio REMA , por su colaboración en la realización de las pruebas microbiológicas en la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Al Centro de Microscopía Microcore de la Universidad de los Andes en el procesamiento de las muestras para la Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Y al Profesor de estadística Gerardo Ardila Duarte, por su paciencia y eficiencia en el análisis de datos estadísticos.

Glosario

Biospada: Innovador antimicrobiano capaz de limpiar, desinfectar y proporcionar protección duradera en un solo paso gracias a la nanotecnología SPADA.

Cavitación: Fenómeno físico caracterizado por la formación e implosión de burbujas de vapor dentro de un líquido.

Desinfección: Destrucción de microorganismos patógenos, pero no necesariamente de esporas; generalmente por agentes químicos.

Hipoclorito de Sodio: Potente agente antimicrobiano que presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos.

Irrigación: Introducción de una o más soluciones en la cámara pulpar y conductos radiculares para desinfectar y limpiar el sistema de conductos y garantizar el éxito del tratamiento.

Irrigación Ultrasónica Pasiva: Proceso por el cual se envía energía acústica al conducto radicular desde una lima oscilante o un alambre liso a un irrigante. Las ondas ultrasónicas transportan la energía, lo que puede causar cavitación y transmisión acústica.

Microtransmisión acústica: Circulación de fluidos y fuerzas de corte hidrodinámicas en las proximidades de un objeto pequeño que vibra, como una lima de endodoncia activada por ultrasonidos.

Introducción

A diferencia de la cavidad oral, el sistema de conductos radiculares no tiene microbiota comensal y cualquier microorganismo detectado allí se considera un patógeno potencial. (1) La presencia de microorganismos en la pulpa dental está directamente asociada con el desarrollo de una patología periapical, por lo que establecer un control de las infecciones es un objetivo clave de la terapia endodóntica. (2)

El desarrollo de la infección dentro del conducto radicular inicia una vez la pulpa se vuelve necrótica, luego de una caries, trauma, enfermedad periodontal o iatrogenia, o por procedimientos previos del conducto radicular. Una vez establecida, la infección logra avanzar gradualmente en dirección apical, donde las bacterias gracias a sus factores de virulencia alcanzan los tejidos perirradiculares a través de vías como lo son el foramen apical, conductos laterales, túbulos dentinales, y generan inflamación. Seguidamente, se desarrolla la periodontitis apical que dependiendo de factores bacterianos y del huésped, puede ser sintomática o asintomática ocasionando un daño significativo del tejido perirradicular con la formación de pus (absceso) o reabsorción ósea.(3)(4)

Generalmente las infecciones del conducto radicular son causadas por biopelículas microbianas de múltiples especies adheridas a las superficies de la dentina, que alteran el estado nutricional y ambiental dentro del conducto radicular, volviéndolo más anaerobio.(5) Los tipos de bacterias encontradas van desde anaerobios facultativos a aerobios, hasta especies muy resistentes como *Enterococcus*

faecalis, un indicador biológico ampliamente evaluado *que* sobrevive en condiciones ambientales con suministro deficiente de nutrientes, crece como una biopelícula en las paredes del conducto radicular sin el apoyo sinérgico de otras bacterias, lo que hace que sea un patógeno muy resistente, asociado a fracaso endodóntico.(6)(7)

Por lo anterior, la desinfección del sistema de conductos radiculares sigue siendo un gran reto, debido a la persistencia de microorganismos en sitios anatómicos de difícil acceso, especialmente en la porción apical(6). Debido a la complejidad de la anatomía del conducto radicular y las limitaciones de la preparación mecánica, la instrumentación debe combinarse con una irrigación adecuada para reducir el número de microorganismos dentro del conducto radicular así como los niveles de falla en la terapia endodóntica.(8) La irrigación convencional es el método que más se ha utilizado, pero es ineficaz en la zona apical e istmo ya que transporta la solución irrigante solo 1 mm más allá de la punta de la aguja, (9) razón por la cual, el enfoque ha sido mejorado mediante la irrigación ultrasónica pasiva, donde se utiliza un dispositivo ultrasónico que produce energía acústica y a su vez genera ondas ultrasónicas, cavitación y calor, favoreciendo así la eliminación de barrillo dentinal, abriendo los túbulos y maximizando el efecto antibacteriano del irrigante.(10) En la búsqueda de superar los inconvenientes de los agentes antibacterianos convencionales y lograr resultados prometedores en endodoncia, se han introducido nanopartículas antimicrobianas que ofrecen numerosas ventajas ya que brindan un nuevo avance para la prevención y tratamiento de infecciones dentales debido a sus excelentes propiedades químicas y físicas.(11)

1. Aspectos teórico-científicos

Planteamiento del Problema

La terapia endodóntica tiene como objetivo eliminar la infección microbiana causada por microorganismos como: *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Treponema denticola*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Streptococcus* y *Enterococcus* preservar el tejido pulpar ya que su éxito se basa en una instrumentación eficaz, desinfección y obturación.(12) Sin embargo más del 50% de sus paredes permanecen intactas después de la instrumentación y es por esto que la irrigación juega un papel importante para reducir la carga bacteriana(13).

La irrigación manual con aguja convencional suministra el irrigante no más de 0 a 1,1 mm más allá de la punta de la aguja, en consecuencia, es poco probable que se eliminen por completo los detritus del sistema de conductos radiculares, además de que los microorganismos tienen la capacidad de sobrevivir y colonizar áreas inaccesibles(14) como *Enterococcus faecalis* que se encuentra en infecciones persistentes asociadas con falla endodóntica(15).

Actualmente ningún irrigante tiene la capacidad por sí solo de disolver el tejido pulpar orgánico, y de remover la materia inorgánica de las paredes del conducto, es por esto que en la práctica actual se ha sugerido potencializar el irrigante mediante la activación.(16) La desinfección del conducto radicular sigue siendo un gran desafío debido a la gran variabilidad anatómica. La irrigación es esencial para optimizar la desinfección y llegar a todas las áreas donde con la instrumentación mecánica no es posible.(8) El método de irrigación más comúnmente utilizado es el

uso de jeringas y agujas convencionales, sin embargo tienen limitación con la remoción de detritus y acceso al tercio apical. (17)

A pesar de que las técnicas de instrumentación y preparación biomecánicas cada día evolucionan más, debido a la complejidad anatómica del sistema de conductos radiculares, algunas bacterias no siempre se pueden alcanzar con las limas manuales ni con algunos irrigantes.(18) Por consiguiente, se han propuesto técnicas de irrigación novedosas que pueden mejorarse en cuanto a su activación, como la irrigación pasiva ultrasónica(PUI)(19)

El hipoclorito de sodio (NaOCl) sigue siendo la solución de irrigación preferida, gracias a sus numerosas ventajas: Capacidad para disolver los tejidos vitales y necróticos, acción antimicrobiana, baja tensión superficial y lubricación, es económico, tiene una larga vida útil y se encuentra fácilmente disponible. (20) El NaOCl presenta propiedades antisépticas debido a la formación de ácido hipocloroso y la posterior liberación de cloro, que es un bactericida muy activo ya que el cloro libre en NaOCl disuelve el tejido necrótico al descomponer las proteínas en aminoácidos y para obtener este efecto se han recomendado concentraciones que oscilan entre el 0,5% y el 5,25%.(21). Gonzalez K. et al. en el 2020 afirmaron que la técnica de activación ultrasónica pasiva (PUI) incrementa la acción del irrigante, optimiza la limpieza y desinfección del conducto. (22) Por su parte, Paz D et al. en 2019 observaron una reducción significativa de unidades formadoras de colonias (23), A.Abu Hasna et al. en 2021 concluyeron que la técnica ultrasónica era un complemento a la activación dinámica manual, siendo significativamente más

efectiva que la irrigación convencional y el sistema EndoVac en la eliminación bacteriana.(24)

Biospada es un innovador y revolucionario agente antimicrobiano que provee una barrera invisible que inhibe el crecimiento de bacterias, virus, hongos, moho, algas y protozoos, cuyo componente activo es el 3-trihidroxisilil propildimetil-octadecil amonio.(25) Es capaz de desinfectar y proporcionar protección duradera en un solo paso gracias a su exclusiva nanotecnología SPADA, sin embargo, a la fecha no hay estudios reportados en la literatura aplicados en el campo de la odontología, específicamente en la Endodoncia.

1.1 Justificación

A lo largo del tiempo, se han desarrollado nuevas y mejores técnicas de irrigación, así como formas de distribuir el irrigante y que a su vez faciliten el acceso a través del conducto radicular. (26) Estas técnicas han evolucionado gracias a la aparición de los sistemas de activación como el ultrasónico que es uno de los más utilizados en el campo de la endodoncia.(27)

En la mayoría de los casos, el tratamiento endodóntico fracasa cuando los procedimientos realizados dentro de los conductos radiculares no logran un control satisfactorio y la eliminación de la infección.(28) Algunas partes del conducto radicular permanecen intactas con frecuencia durante el proceso de preparación biomecánica, independientemente de la técnica empleada o los instrumentos utilizados, éstas áreas no tocadas por los instrumentos pueden contener bacterias

o restos de tejido necrótico, aunque la obturación de los conductos radiculares puede parecer radiográficamente adecuada.(29)

El desbridamiento completo de los conductos infectados puede ser inalcanzable debido a la inaccesibilidad de los sitios de infección y la actividad de microorganismos que sobreviven dentro de la porción apical como *Enterococcus faecalis*, un coco anaeróbico grampositivo que muestra una alta resistencia a los agentes antimicrobianos y se considera como un patógeno oportunista, cuya persistencia en los conductos radiculares representa un importante problema terapéutico.(7)

Akpata y Blechman en 1982 demostraron que *Enterococcus faecalis* invade los túbulos dentinarios.(30) Por su parte, Rôças et al. en el año 2004 asociaron a *Enterococcus faecalis* con diferentes formas de enfermedad perirradicular, encontrándose en infecciones primarias en 4 a 40% y presentándose con más frecuencia en la periodontitis apical asintomática, mientras que en infecciones secundarias, la frecuencia es mucho mayor porque los casos de tratamiento fallido del conducto radicular tienen nueve veces más probabilidades de contener *Enterococcus faecalis* que las infecciones endodónticas primarias.(31) De igual forma, Alghamdi y Shakir en 2020 destacaron a *Enterococcus faecalis* como el principal patógeno responsable del fracaso del tratamiento endodóntico por su capacidad para sobrevivir en diferentes ambientes, resistir a medidas de desinfección, crear una biopelícula, vivir en áreas inalcanzables, lo que dificulta el desbridamiento quimicomecánico de un conducto radicular.(7)

Lo anteriormente mencionado busca orientar al clínico en el reconocimiento de nuevos protocolos de irrigación que contribuyan a la disminución de fracasos en la consulta odontológica como acción de procedimientos endodónticos que no logran ser resueltos mediante la terapia endodóntica con los tradicionales sistemas de irrigación como el Hipoclorito de sodio que es considerado como el Gold Estándar y que motivan al uso de nuevos materiales de desarrollo tecnológico con el surgimiento de nanopartículas que se han incorporado en la práctica clínica como lo es la Biospada que resulta ser prometedor para la desinfección del conducto radicular.(11)

1.2 Propósito

Las innovaciones tecnológicas en odontología procuran dar solución a una diversidad de problemas. Las nanopartículas han impactado el campo de la ciencia médica y dental, en el campo de la endodoncia sigue existiendo una gran preocupación por la eliminación de las biopelículas microbianas del sistema de conductos radiculares. Las nanopartículas han demostrado ser mucho más eficientes, con una buena capacidad de adhesión y química superficial, en comparación con los materiales convencionales(11).

De acuerdo con lo anterior, en este estudio se espera generar conocimiento acerca de la aplicación de Biospada como agente irrigante y determinar su aplicación en endodoncia para lograr una mejor tasa de éxito del tratamiento.

1.3 Antecedentes

Actualmente en la literatura no se encuentran estudios de Biospada aplicada como irrigante en endodoncia, sin embargo, si se ha estudiado su efectividad antimicrobiana en otros campos. Jiang et al. en el 2010 informaron modificaciones en las diferentes cepas bacterianas de estructuras proteicas después de haber sido expuestas a nanopartículas de óxido.(32) Windler et al. en el 2013 afirmaron que 3-trihidroxisilil propildimetil-octadecil amonio se ha utilizado en los campos de los alimentos y médicos gracias a sus propiedades antimicrobianas.(33)Schifman et al. en el 2015 indicaron una disminución con la carga antimicrobiana y una reducción del 99% del número total de organismos cultivables de E. coli que se pudo lograr dentro de 1.8 horas utilizando 3-trihidroxisilil propildimetil-octadecil amonio.(34) Chun-Chieh Tseng et al. en el 2016 en su estudio sobre bioaerosoles en contacto con la mascarilla, afirmaron que cloruro de 3-trihidroxisilil propildimetil-octadecil amonio, redujo las tasas promedio de colonias A. baumannii, E. faecalis y S. aureus, en un 91,8.(35) Faghihzadeh et al en 2016 mostraron que las regiones espectrales cambiaron según el tiempo de exposición después del tratamiento de las bacterias con nanopartículas.(36)

1.4 Marco Teórico (Legal, conceptual y teórico)

1.4.1 Marco Legal

Mediante el artículo 11 de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud y Protección Social de la República de Colombia(37), Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, el

presente proyecto se encuentra en la categoría de riesgo mínimo porque se emplearán dientes permanentes unirradiculares extraídos por indicación terapéutica, previa firma de consentimiento informado y formato de donación de órganos/dientes.

1.4.2 Marco teórico

Microbioma del Sistema de Conductos Radiculares

Está inicialmente dominada por aerobios y anaerobios facultativos, sin embargo, a medida que avanza la enfermedad, cambia la ecología dentro del sistema de conductos radiculares(38)

Microbioma endodóntico en la periodontitis apical primaria

Las especies bacterianas implicadas en estas infecciones son especies pioneras, que iniciaron el proceso de inflamación pulpar, necrosis e infección, y tardías, las cuales aprovecharon las condiciones ambientales en el conducto necrótico para establecerse. En las infecciones primarias se encuentran microorganismos Gram-negativos como *Fusobacterium nucleatum* , especies de *Dialister* , *Porphyromonas endodontalis* , *Porphyromonas gingivalis* , *Prevotella*, *Tannerella forsythia* y *Treponema* , así como también bacterias grampositivas como *Parvimonas micra* , *Filifactor alocis* , *Pseudoramibacter alactolyticus* , *Olsenella uli* , especies de *Actinomyces* , *Streptococcus* , *Propionibacterium* y *Cutibacterium acnés*.(39)(40)(41)

Microbioma endodóntico en la periodontitis apical secundaria

La periodontitis apical secundaria es un problema infeccioso causado por una infección intrarradicular persistente o secundaria o, en algunos casos, por una infección extrarradicular, con persistencia de signos y/o síntomas, radiolucidez perirradicular, tracto sinusal, inflamación y dolor a la percusión.(3)

Enterococcus faecalis es una de las especies más prevalentes que se encuentran en los conductos de los dientes con periodontitis apical posterior al tratamiento endodóntico debido a su capacidad para sobrevivir en condiciones ambientales adversas.(42) Otros microorganismos bacterianos encontrados con frecuencia incluyen especies de *Streptococcus*, *Actinomyces*, *C. acnes*, *P. alactolítico*, *Arachnia propionica* (*Propionibacterium propionicum*), especie *Dialister* , *F. nucleatum* , *P. micra* y especies de *Prevotella* .(43) (44)

1.4.3 Marco Conceptual

Enterococcus faecalis

Generalidades

Los enterococos son bacterias Gram positivas que forman parte de la flora comensal del tracto gastrointestinal e implicados en infecciones de cierta importancia clínica. *Enterococcus faecalis* el responsable del 80% de las infecciones humanas es capaz de resistir en condiciones extremas, multiplicarse a temperaturas entre 10 y 45 °C, y soportar un pH alcalino, resistir el peróxido de

hidrógeno, el etanol, el hipoclorito de sodio y la radiación ultravioleta en ausencia de nutrientes durante períodos prolongados.(38) Es uno de los tipos de bacterias más resistentes a los antibióticos. Puede tolerar y sobrevivir en condiciones extremas, compite con otros microbios por la supervivencia, forma biopelícula, invade los túbulos dentinarios y posee factores de virulencia que contribuyen a su supervivencia(45)

Es una de las bacterias más resistentes a los antibióticos, puede tolerar y sobrevivir en condiciones extremas, compite con otros microbios por la supervivencia, forma biopelícula, invade los túbulos dentinarios y posee factores de virulencia que contribuyen a su supervivencia.(45)

Prevalencia

Los fracasos endodónticos posteriores al tratamiento se han relacionado comúnmente con la especie bacteriana Gram-positiva *Enterococcus faecalis* y en casos de infecciones secundarias del conducto radicular su prevalencia puede alcanzar valores de hasta el 70%.(46) En conductos radiculares previamente tratados ha sido aislada en un 45,8% de los casos(47), Sedgley et al. informaron que la prevalencia de *E. faecalis* fue significativamente mayor en los casos de retratamiento (89,6%) que en la infección primaria (67,5%) (48)

Factores de Virulencia

Una de las razones importantes de la eliminación de las infecciones por *Enterococcus faecalis* son los factores de virulencia que son los responsables de la patogenicidad.(49)

✓ **Sustancia de agregación (AS)**

Es una adhesina bacteriana codificada por plásmido que responde a feromonas que media el contacto eficaz entre la bacteria donante y la receptora, lo que facilita el intercambio de plásmidos, otra de sus funciones es mediar en la unión a las proteínas de la matriz extracelular (MEC), incluido el colágeno tipo I.(50) La unión al colágeno tipo I por parte de las bacterias puede ser de particular importancia con respecto a las infecciones endodónticas, ya que este es el principal componente orgánico de la dentina.(50)

✓ **Adhesinas de superficie**

Se asocian con la promoción de la adhesión primaria y la formación de biopelículas de *Enterococcus faecalis* en superficies abióticas, en las paredes dentinarias medicadas, y esta forma de organización podría permitir que las bacterias resistan el efecto bactericida de la medicación con hidróxido de calcio en los conductos radiculares infectados.(51)

✓ **Feromonas sexuales**

Producción de feromonas sexuales por cepas de *Enterococcus faecalis* y su efecto inductor de aglutinación bacteriana fue descrito por primera vez por Dunny et al., 1978. Posteriormente se demostró que la resistencia a los antibióticos y otros rasgos de virulencia, como la producción de citolisina, pueden transmitirse en cepas de *E. faecalis* por sistema de feromonas sexuales Clewell y Weaver, 1989(52)

✓ **Gelatinasa**

Degrada a la gelatina, caseína, hemoglobina y ciertos péptidos bioactivos como feromonas quimiotácticas de *Enterococcus faecalis*. Esta proteasa se encarga de

modular las defensas del hospedero induciendo la ausencia o acumulación de leucocitos en los tejidos colonizados.(53)

✓ **Citolisina**

Anteriormente llamada hemolisina. La citolisina provoca la lisis celular, además actúa como toxina provocando la ruptura del sistema membranoso de glóbulos rojos e induce la liberación de mediadores inflamatorios a partir del tejido dañado.(53)

Irrigantes endodónticos

Dentro de las sustancias irrigantes se encuentran las siguientes:

- **Hipoclorito de Sodio**

La irrigación en endodoncia con la solución de hipoclorito de sodio fue evolucionando desde que se introdujo para la desinfección de las manos en medicina en 1847 por Semmelweis, se usó como eliminador de tejidos necróticos mediante la adición de molécula de potasio o sodio metálicos en los conductos radiculares, produciendo según el autor "fuegos artificiales" por parte de Schreier en 1893.(54) En la primera guerra mundial Dakin en 1915 usó el hipoclorito de sodio al 0,5% para el manejo de las heridas y se denominó "Solución de Dakin", se utilizaron enzimas proteolíticas por su propiedad de disolver los tejidos, para 1940, el agua destilada era el irrigante endodóntico habitualmente utilizado, igualmente se utilizaron ácidos como el ácido clorhídrico al 30% y ácido sulfúrico al 50% sin entender los peligros que estos agentes ocasionarían a los tejidos periradiculares. Por su parte, Grossman en 1941, preconiza la irrigación del sistema de conductos radiculares con peróxido de hidrógeno , el cual lo combina con hipoclorito de sodio, aplicándolo en forma alternada, consiguiendo de esta manera una mayor limpieza,

obtenida por la efervescencia debida al oxígeno naciente que libera el agua oxigenada.(55)

El hipoclorito de sodio es el compuesto halogenado más popular utilizado en endodoncia para la irrigación de los canales radiculares, desde principios del Siglo XX(56). En la práctica actual es el irrigante por excelencia por ser el que más se acerca a las condiciones ideales por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital y además de poseer un amplio efecto antibacteriano, según Yesilsoy C et al 1995 el hipoclorito de sodio elimina rápidamente microorganismos Gram Positivos, Gram Negativos, bacterias, esporas, hongos y virus, tiene un pH alcalino entre 10,7 y 12,2, es excelente lubricante y blanqueador, posee una tensión superficial baja, posee una vida media de almacenamiento prolongada y es poco costoso.(57)

Sin embargo, el hipoclorito de sodio presenta una desventaja al ser un agente irritante para el tejido periapical (58)(59) además del sabor que es inaceptable por los pacientes y por sí solo no remueve la capa de desecho, ya que solo actúa sobre la materia orgánica de la pulpa y predentina.(60) Yesilsoy C et al 1995 , en su estudios encontraron que las concentraciones clínicas varían entre el 0,5% al 6%, la dilución del NaOCl disminuye significativamente la propiedad antibacteriana, la propiedad de disolución del tejido y la propiedad de desbridamiento del conducto, al igual que disminuye su toxicidad.(57)

Siqueira et al 2000. compararon los efectos antibacterianos producidos por la irrigación con hipoclorito de sodio al 1%, 2,5% y 5,25%. Ellos concluyeron que los cambios regulares y el uso de grandes cantidades del irrigante deben mantener la efectividad antibacteriana del hipoclorito de sodio, compensando los efectos de

concentración(61)(62). Gomes et al 2001, analizaron el efecto antimicrobiano in vitro sobre el E. Faecalis a través de diferentes concentraciones de NaOCL donde fueron necesarios 10 y 30 minutos respectivamente cuando se utilizó el NaOCL a 2,5% y 0.5%, sin embargo este microorganismo fue eliminado de 30 segundos cuando la concentración de la solución era del 5.25%.(63) Sin embargo, el NaOCl no cumple con eliminación del barrillo dentinal y es necesario combinarlo con agentes quelantes.(60)

- **Clorhexidina**

La clorhexidina (CHX) es una bis-guanida catiónica sintética que consta de dos anillos simétricos de 4-clorofenilo y dos grupos biguanida conectados por una cadena central de hexametilen, que ataca múltiples sitios a nivel celular.(64)(65) CHX es una molécula hidrófila y lipófila cargada positivamente que interactúa con los fosfolípidos y lipopolisacáridos en las membranas celulares, causando su ruptura, lo que permite que las moléculas de CHX entren en la célula y provoquen efectos tóxicos intracelulares. (66) Su eficacia se debe a la interacción de la carga positiva de la molécula y los grupos fosfato cargados negativamente en las paredes celulares microbianas, alterando así su equilibrio osmótico.(67)

En cuanto al espectro de actividad, CHX es bactericida y eficaz contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, anaerobias facultativas y estrictas, levaduras y hongos, particularmente Candida albicans, y virus e inactivo frente a esporas bacterianas a temperatura ambiente.(68)

A una concentración de 0,2%, no es muy bactericida mientras que en concentraciones del 2% es mejor, aunque si se usa directamente después de NaOCl

puede causar un precipitado oscuro(69), que es difícil de eliminar y que se asocia con riesgos potenciales para la salud, por lo que se recomienda un irrigante intermedio como solución salina cuando se trata un mismo diente.(66)

Por su parte, Delanyet al. 1982 evaluaron el gluconato de CHX al 0,2 % en conductos radiculares infectados. Las muestras bacteriológicas se obtuvieron antes, durante, y 24 horas después de la instrumentación, irrigación y medicación, con gluconato de CHX o con solución salina estéril. Hubo una reducción muy significativa de microorganismos en las muestras tratadas con CHX después de los procedimientos de instrumentación e irrigación. (70) Heling y Chandler en 1998 estudiaron el efecto antimicrobiano de las combinaciones de irrigantes dentro de los túbulos dentinarios in vitro contra *E. faecalis* y descubrieron que una combinación específica de peróxido de hidrógeno al 3 % y CHX era superior en su actividad antibacteriana en la dentina en comparación con otros regímenes, como CHX y NaOCl utilizados de manera individual.(70)

Oncag et al. 2003 evaluaron las propiedades antibacterianas del NaOCl al 5,25%, CHX al 2% y CHX al 0,2% más cetrimida (Cetrexidin) al 0,2% después de 5 minutos y 48 horas en conductos infectados por *Enterococcus faecalis* . La CHX al 2 % y la cetrexidina fueron significativamente más eficaces en *E. faecalis* que el NaOCl al 5,25% en ambos periodos de tiempo.(71) Ercanet al.2004 evaluaron la actividad antibacteriana de CHX al 2% e hipoclorito de sodio al 5,25% en conductos radiculares infectados de incisivos y premolares. Concluyeron que tanto la CHX como el hipoclorito de sodio fueron significativamente efectivos para reducir los

microorganismos en los dientes con pulpas necróticas, patologías periapicales o ambas, y podrían usarse con éxito como solución de irrigación(70).

En general, los estudios donde se compara el efecto bactericida de CHX y NaOCl han arrojado resultados contradictorios, al parecer cuando se usan en concentraciones idénticas, su efecto antibacteriano *in vitro* (dentina infectada) e *in vivo* (en el sistema de conductos radiculares) es similar y la actividad antimicrobiana estaría relacionada con el tipo, concentración y forma de presentación de los irrigantes, así como con la susceptibilidad microbiana (67)

- **Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂)**

Es un líquido incoloro y se ha utilizado en odontología en concentraciones que varían del 1% al 30%. Se degrada para formar agua y oxígeno y es activo contra virus, bacterias, esporas bacterianas y levaduras (72) a través de los radicales libres hidroxilo que atacan las proteínas y el ADN.(73) La evidencia actual no respalda el uso de H₂O₂ sobre otros irrigantes y no se ha demostrado que reduzca significativamente la carga bacteriana en los conductos, debido a la efervescencia con H₂O₂ y la filtración en los tejidos existe el peligro de provocar enfisema aéreo.(66)

- **Qmix**

Es un sistema de irrigación del conducto radicular a base de clorhexidina (CHX) que también contiene ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), solución salina y un detergente antibacteriano,(74) Presenta sustentividad y capacidad para eliminar el barrillo dentinario, gracias a sus efectos sobre la dentina favorece la retención de

postes de fibra, su capacidad de eliminación de barrillo dentinario es comparable a la del EDTA al 17 % y la actividad antibacteriana de QMix es superior a NaOCl al 1 % y al 2 % y al 2 % de CHX.(75)

Muchos estudios han comparado la propiedad antimicrobiana de QMix con otros irrigantes contra *E. faecalis* mostrando resultados variables; algunos mostraron una acción antibacteriana más fuerte en un volumen / tiempo más bajo, mientras que otros mostraron resultados contrarios.(76)(77)(78)

- **MTAD**

MTAD fue presentado por Torabinejad y Johnson en 2003, se introdujo como un nuevo irrigante para dar solución a algunas limitaciones y cumplir con todos los requisitos ideales. MTAD se compone de doxiciclina al 3% (un antibiótico), ácido cítrico al 4,25% (desmineralizante de la dentina) y tween 80 al 0,5% (de acción detergente) generalmente utilizado como irrigante alternativo del conducto radicular. (70)(79) que tiene la capacidad de eliminar el barrillo dentinario y se ha sugerido que es más eficaz que el hipoclorito de sodio y la clorhexidina en la desinfección de los conductos radiculares(79). Por su parte, Torabinejad et al. 2003 han demostrado que MTAD es capaz de eliminar el barrillo dentinario y es eficaz contra *Enterococcus faecalis*.(70) Aunque MTAD puede eliminar eficazmente el barrillo dentinario y *E. faecalis*, algunos investigadores siguen insistiendo en que el NaOCl es más eficaz.(80)

- **Triton**

Triton (TX-100) es un surfactante no iónico, utilizado para modificar nanomateriales a fin de mejorar sus efectos antibacterianos. Algunos investigadores han combinado TX-100 con otros materiales para obtener efectos antimicrobianos sinérgicos.(81) Como detergente no iónico, puede incorporarse a los liposomas de las membranas celulares, aumentando la penetrabilidad de la membrana(82) Aunque es una herramienta esencial ya que es capaz de solubilizar proteínas de membrana, muestra una actividad antibacteriana débil y rara vez se usa como agente antibacteriano. (83) Sin embargo, Duan et al. 2022 demostraron que la mezcla TX-100 + iones de plata Ag^+ tiene un fuerte efecto bactericida similar al de CHX al 2% pero una citotoxicidad mucho menor. Esta combinación podría convertirse en un nuevo agente antibacteriano eficaz y seguro para la odontología pero son necesarios más estudios.(84)

Quelantes

EDTA 17%

El ácido etilendiaminotetraacético es un efectivo agente quelante que aumenta el diámetro de los túbulos dentinales, facilita la remoción de la capa superficial de la dentina, elimina el barrillo dentinal, presenta alta tensión superficial (85) lo que podría limitar su penetración en los túbulos dentinarios así como en las irregularidades del sistema de conductos radiculares e istmos. (86)

Para dar solución a sus limitaciones de tensión superficial, se ha sugerido la adición de agentes tensoactivos como cetrimida para disminuir su tensión superficial (87) y

aumentar su penetrabilidad en las áreas del sistema de conductos radiculares inaccesibles a la instrumentación mecánica.(88)

El EDTA en sí mismo no es antimicrobiano, pero puede ejercer actividad antimicrobiana quelando cationes divalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+}) necesarios para el crecimiento y la estabilidad de la membrana y también pueden mostrar actividad antibiofilm.(86) El uso combinado de NaOCl y EDTA crea una interacción química y una reacción exotérmica (89) lo que reduce el cloro disponible en las soluciones de NaOCl hasta en un 80 % comprometiendo las propiedades microbianas y de disolución de tejido orgánico.(90)

Ácido cítrico

Es un ácido tricarboxílico, su pH oscila entre 0,8 y 1,9, normalmente se usa para desintoxicar las superficies radiculares y exponer las fibras de colágeno intrínsecas en una nueva terapia de unión y para ayudar a eliminar el barrillo dentinario durante la preparación biomecánica.(60) Campello y colaboradores observaron una reducción significativa del 98 % en los recuentos bacterianos al usar ácido cítrico y recomiendan un uso alternativo de NaOCl y ácido cítrico seguido de agitación con XP-endo Finisher para mejorar la reducción de *Enterococcus faecalis*(91)

En terapia fotodinámica contra *Enterococcus faecalis*, el uso de un fotosensibilizador a base de ácido cítrico mejora significativamente el efecto antibacteriano.(91) El ácido cítrico ha demostrado ser eficaz en la eliminación del barrillo dentinario, mostrando mejores resultados en los tercios coronal y medio del conducto radicular, mejorando su efecto cuando se combina con la activación dinámica manual durante 30 segundos ya que si son 60 segundos presenta erosión

de la dentina, lo que disminuye la microdureza de la dentina y causar descalcificación y erosión, especialmente cuando se usa antes de NaOCl.(92)

Delgado et al. en el 2022 mencionaron que el ácido cítrico es mas beneficioso en procedimientos como endodoncia regenerativa debido a la mayor liberación de TGF- β 1, adicionalmente por su remoción completa de hidróxido de calcio intraconducto y eliminación de microorganismos mostrando mejores resultados que NaOCl.(93)

Ácido fosfórico

El ácido fosfórico (H_3PO_4) elimina el barrillo dentinal alojado dentro de los túbulos y en las paredes del conducto radicular, es utilizado en endodoncia a modo de coadyuvante al 4%, y 3%, en comparación mostró mayor calidad de limpieza de la pared dentinaria del sistema de conductos, sin mejoras estadísticamente significativas; con respecto a la activación(94) y el tiempo de permanencia se demostró en estudios realizados por Prado et al. 2011 que al usarlo en concentraciones elevadas puede no ser biológicamente segura, por lo que la disminución de las concentraciones resultaría imprescindible hacia su posible utilización clínica(95), por otro lado, en estudios comparativos del efecto antimicrobiano y la citotoxicidad el ácido fosfórico al 37% mostró un efecto antimicrobiano contra los patógenos endodónticos similar a la de NaOCl al 5,25% y clorhexidina al 2% en solución y gel.(90)

Nanotecnología

Es un campo interdisciplinario de rápido desarrollo que se presenta para diversas aplicaciones biomédicas, como la regeneración de tejidos, la administración de fármacos, los biosensores, la transfección de genes y la obtención de imágenes. en odontología, además se puede utilizar como creación de nanopartículas seguras en la clínica.(96)

Nanopartículas

Son partículas de tamaño nanométrico, tienen una dimensión que oscila entre 1 y 100 nm, se han convertido en herramientas prometedoras con amplias propiedades aplicadas en la administración de fármacos, diagnósticos, cosméticos y varias otras áreas biológicas y no biológicas. (97)(98)

Una forma de presentación es como nanopartículas poliméricas (PNP) para ser utilizado como vehículos de liberación controlada y sostenida de fármacos, caracterizadas como una entidad encapsulada que puede unirse a la superficie de una nanoesfera o nanocápsula, o incorporarse a una matriz por ejemplo el ácido poliláctico glicólico.(99)

Al ser un material nuevo se debe tener cuidado en la aplicación ya que el cuerpo puede generar una señalización inflamatoria a través de las vías c-Src, p38 MAP quinasa y NF- κ B, y aumentan la liberación de citoquinas proinflamatorias de los macrófagos y va a estar determinada por el tamaño y el funcionamiento del hígado.(100)(101)

Biospada

Biospada 60 es un agente antimicrobial de larga duración que desinfecta en un solo paso y protege durante semanas hasta que se elimine por abrasión, inhibiendo el crecimiento de bacterias, hongos, moho, algas, levaduras, virus, protozoos y otros microorganismos, cuyo componente activo es el 3-(Trihydroxysilyl)propyl dimethyl octadecyl ammonium chloride.(25) KatanTech incorpora tecnología avanzada a nanoescala de matriz antimicrobiana polimérica autoalineable (SPADA) que logra una protección antimicrobiana duradera, eficaz, rentable y ecológica . La nanotecnología SPADA funciona proporcionando una capa protectora de moléculas llamadas nano-espadas a la superficie, se adhiere fuertemente a las superficies y también se une a otras moléculas de SPADA de una manera que mantiene la 'espada' en posición vertical. La punta de las moléculas actúa como la punta de una espada, perforando físicamente las paredes celulares de los microorganismos destruyéndolos. El ingrediente activo de la nanotecnología SPADA ha sido aprobado por autoridades nacionales e internacionales, incluida la Autoridad de Seguridad Alimentaria de Nueva Zelanda. Según los estudios de Yujin Kim et. Al 2020, brinda protección continua por hasta ocho horas, aunque se recomienda que se vuelva a aplicar cada tres o cuatro horas.(102)

Como se mencionó anteriormente, en la literatura no se reportan estudios de Biospada en Endodoncia, sin embargo si se han realizado investigaciones acerca de su efectividad microbiana en otros campos.(32)(33)(34)(35)(36)

Irrigación Ultrasónica Pasiva (PUI)

Fue descrita por Weller y col. En 1980. El término "pasivo" no describe adecuadamente el proceso, ya que es en realidad activo, sin embargo, cuando se introdujo por primera vez el término pasivo fue relacionándolo con la acción no cortante de la lima activada por el ultrasonido. PUI se basa en la transmisión de energía acústica desde una lima oscilante o alambre liso a una solución de irrigación en el conducto radicular.(103) La energía se transmite por medio de ondas de ultrasonido y puede inducir la transmisión acústica y la cavitación de la irrigación.(104) Después de que el conducto radicular se ha conformado hasta la lima apical maestra (independientemente de la técnica de preparación utilizada), una pequeña lima o alambre liso (por ejemplo el tamaño 15) se introduce en el centro del conducto radicular, hasta la región apical. El conducto radicular se llena con una solución de irrigación y la lima de ultrasonido oscilante activa la irrigación. A medida que el conducto radicular ya se ha conformado, la lima o el alambre se puede mover libremente y la irrigación pueda penetrar más fácilmente en la parte apical del conducto radicular, por lo que el efecto de limpieza será más poderoso.(105) Con esta metodología no cortante, la posibilidad de crear formas aberrantes dentro del conducto radicular se reducirá al mínimo. La eficacia de la limpieza de tejidos de PUI implica la remoción efectiva de detritus de dentina, los microorganismos (biofilm) y tejidos orgánicos del conducto radicular. Debido a la transmisión activa de la irrigación, su potencial de contacto en una mayor superficie de la pared del conducto se verá incrementada.(106)

Si se va a utilizar la activación ultrasónica de hipoclorito de sodio, resulta importante aplicar el instrumento de ultrasonido después que la preparación del conducto se haya completado. Parece mejor colocar un delgado instrumento cortante, de manera controlada después de la preparación del conducto radicular. (107) Recientemente se están comercializando, alambres lisos montados en un dispositivo de ultrasonido. Sin embargo, en este momento no se pueden dar directivas claras en cuanto a su relación riesgo / beneficio. (108)

Cunningham W et al 1982 y Solovyeva AM et al 2000 en sus estudios afirman que el uso del hipoclorito de sodio combinado con el ultrasonido o un sistema de vibración de ondas es el medio de irrigación que mayor efecto antibacterial presenta. Utilizando esta combinación se mejora el intercambio de las sustancias en el conducto, permite un calentamiento de la sustancia irrigadora, se eliminan restos dentinarios y parte de la capa de desecho, logrando así un mayor efecto de limpieza. (109)(110)

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo General

Comparar la efectividad de Biospada 60 y el Hipoclorito de sodio al 5,25% activados con ultrasonido en la desinfección de tubos de dentina infectados con *Enterococcus faecalis*.

1.6.2 Objetivos Específicos

- Establecer el número de unidades formadoras de colonias en tubos de dentina infectados con *Enterococcus Faecalis* irrigados con Biospada activada con ultrasonido.
- Establecer el número de unidades formadoras de colonias en tubos de dentina infectados con *Enterococcus Faecalis* irrigados con Hipoclorito de sodio activado con ultrasonido.
- Evaluar la efectividad antimicrobiana de ambos irrigantes: Hipoclorito de Sodio 5,25% y Biospada 60 activados con ultrasonido.

1.1 Aspectos Metodológicos

1.2 Tipo de Estudio

El proyecto de investigación es un estudio experimental in vitro.

1.3 Objeto de estudio

El objeto de estudio son el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis*.

1.4 Material objeto de estudio

Conductos radiculares instrumentados y barrillo dentinario o detritus como resultado del proceso de instrumentación biomecánica que permita identificar el recuento de UFC de *Enterococcus faecalis*.

1.5 Unidad de observación

96 tubos de dentina de dientes permanentes unirradiculares humanos extraídos bajo indicaciones ortodónticas y periodontales.

1.6 Muestra

El tamaño de la muestra se calculó con software libre Real Statistics versión 9.1 (R para Excel) con una confianza del 95%, una potencia del 80% y un efecto del error de 0,61. Los datos obtenidos en las muestras son aleatorios, estableciendo para la presente investigación 96 tubos de dentina elaborados a partir de dientes unirradiculares humanos extraídos que cumplieron con los criterios de selección del estudio, establecidos por los investigadores.

1.7 Criterios de selección

1.7.1 Criterios de inclusión

- Dientes unirradiculares permanentes extraídos por motivos ortodónticos o periodontales
- Raíces de dientes naturales con longitud mayor a 10 mm.
- Dientes sin presencia de caries
- Dientes permanentes con ápice radicular cerrado

2.6.2 Criterios de exclusión

- Dientes temporales
- Dientes con restauraciones
- Dientes con Facetas de desgaste
- Dientes con abrasiones

- Dientes con longitud radicular menor a 10 mm.
- Dientes con caries radicular
- Dientes con ápice abierto
- Dientes con Reabsorción radicular externa
- Dientes con Tratamiento endodóntico iniciado
- Dientes con Tratamiento endodóntico previo.

1.8 Procedimiento

1.8.1 Muestra

- **Selección y preparación de la muestra**

Se utilizaron un total de 96 dientes permanentes unirradiculares humanos extraídos por razones ortodónticas y periodontales. Criterios de inclusión se seleccionaron dientes con raíces intactas y ápices maduros, sin caries, tratamientos de endodoncia y restauraciones. Se excluyeron los dientes con caries radicular, reabsorción radicular externa, facetas de desgaste y longitud radicular menor a 10mm.

Después de la extracción los dientes se almacenaron en solución salina durante 1 semana a temperatura ambiente, cada diente fue decoronado con disco de y se estandarizaron las longitudes de las raíces a 10mm desde la unión amelocementaria hasta apical (Fig1). Una vez obtenidos los 96 tubos de dentina, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5,25% durante 15 minutos con el fin de remover tejido orgánico. Inicialmente, los conductos radiculares fueron permeabilizados con lima

preserie #10 k, restando 1mm de la longitud medida cuando la punta de la lima se hizo visible en el foramen apical después instrumentados hasta lima 80 conicidad 2 % (Coltene) y luego con Peeso 1 y 2, entre lima y lima se irrigó con Hipoclorito de sodio al 5,25% y una irrigación final con EDTA al 17%, a continuación los conductos radiculares se irrigaron con 1 ml de solución salina para inactivar el Hipoclorito de sodio residual y se secaron con aire y puntas de papel. Posteriormente se creó un sistema cerrado recubriendo cada raíz con ionómero de vidrio tipo 1 en tercio apical para evitar la filtración bacteriana y se esterilizaron en autoclave durante 17 minutos a 134°C para garantizar un entorno libre de microorganismos (Fig2). Todos los procedimientos experimentales fueron realizados por el mismo operador.

- **Inoculación de la muestra**

La cepa bacteriana *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue sembrada en agar sangre e incubada durante 48 horas a 37° en incubadora con atmósfera de CO₂. (Fig3) Una colonia bacteriana fue colocada en infusión de cerebro y corazón (BHI) para obtener una suspensión bacteriana equivalente a 0,5 según escala de McFarland. Seguidamente cada tubo de dentina fue ubicado en un tubo Eppendorf estéril para llevar a cabo la inoculación con 10-6 ml de la suspensión bacteriana (Fig4). Después se llevaron a la incubadora con atmosfera CO₂ durante 18 días a 37° para permitir el crecimiento de la biopelícula de *Enterococcus faecalis*. (Fig5) Se suministró caldo BHI estéril (20 µl) en los conductos radiculares día de por medio.

- **Protocolo de irrigación y activación**

Los tubos de dentina estaban divididos en 4 grupos experimentales (n=24) según la sustancia de irrigación a utilizar. (Fig6) Cada tubo de dentina se estabilizó en una gradilla de laboratorio y luego por grupos se realizó irrigación ultrasónica pasiva (PUI) (Fig 7 y 8). Se utilizó ultrasonido (D6/WOODPEAKER) y puntas ultrasónicas (DTE Satelec ED4), las cuales se sumergieron en hipoclorito de sodio al 5,25% durante 5 minutos y luego fueron flameadas para eliminar microorganismos y evitar contaminación cruzada en cada espécimen.

- Grupo A: n= 24 tubos de dentina irrigados con 3 ml de Biospada 60, PUI 3 ciclos de 20 segundos, 1 ml del irrigante dispensado por cada ciclo.
- Grupo B: n= 24 tubos de dentina irrigados con 3ml de Hipoclorito de sodio 5,25%, PUI 3 ciclos de 20 segundos, 1 ml del irrigante dispensado por cada ciclo.
- Grupo C: n= 24 tubos de dentina irrigados con 3 ml de Hipoclorito de sodio al 5.25%, PUI 3 ciclos de 20 segundos (1 ml del irrigante por ciclo), luego 3 ml de solución salina, PUI 1 ciclo de 20 segundos, y seguidamente irrigación con 3 ml de solución Biospada 60, PUI 3 ciclos de 20 segundos (1ml del irrigante por ciclo).
- Grupo D o control negativo n= 24 tubos de dentina que se infectaron con la cepa *E. faecalis* durante 18 días y no se les aplicó ningún irrigante

- **Evaluación del crecimiento bacteriano (UFC)**

Todos los conductos se secaron con puntas de papel y luego, con una lima manual #80 (Coltene) se introdujeron en el conducto radicular girándola con movimientos de watch winding (en sentido de las manecillas del reloj) 3-4 veces, cada lima se transfirió a un tubo Eppendorf de 1,5 ml que contenía 1 ml de PBS (Fig9) y se llevó al vórtex con el fin de desprender las bacterias que estuviesen adheridas a la superficie de la lima durante 60 segundos(Fig10). Se realizaron diluciones seriadas , 3 diluciones 1 en 10 , para facilitar el cálculo de UFC, luego se tomaron 50 µl y llevaron a una placa de agar sangre. Con rastrillo, el volumen fue sembrado homogéneamente sobre la superficie del agar. Las placas se incubaron a 37°C por 48 horas en CO2. Para el recuento de UFC se utilizó un contador de colonias(Fig11) en el que se observó si hubo o no crecimiento bacteriano en cada grupo (Fig12-13-14-15). A los datos recopilados del conteo se le aplicó la fórmula: $\text{UFC/ml} = \text{Número de Colonias} \times \text{factor de dilución}$.

- **Preparación de muestra para observación mediante SEM**

Aleatoriamente se eligió 1 tubo de dentina de cada grupo de estudio para realizar la observación por medio de microscopia electrónica de barrido y confrontar los resultados obtenidos en la prueba In vitro. Inicialmente se realizaron procesos de fijación y deshidratación para preservar las muestras biológicas y mantener su superficie intacta para la observación; posteriormente pasaron al secador de punto crítico semiautomático SAMDRI®-795 (Tousimis, EEUU) donde se dispusieron las muestras completamente sumergidas en alcohol puro, el sistema se enfrió a -15°C

y luego, se empezó a purgar todo el alcohol remplazándolo con CO₂ en estado líquido. Cuando todo el alcohol fue remplazado, el sistema se calentó a 30°C, aumentando la presión de la recámara por encima de 1400 psi, siendo un estado de punto crítico para el CO₂. Cuando el sistema logró estar estable, comenzó a liberar CO₂ dejando la muestra completamente seca y las estructuras intactas; a las muestras se les aplicó una capa de oro muy delgada de aproximadamente 10 nm de espesor. Una vez las muestras fueron metalizadas pasaron a ser observadas por SEM(LYRA3 TESCAN). Las imágenes con microscopio electrónico de barrido de después de protocolo de Irrigación Ultrasónica Pasiva en el grupo D control, mostraron invasión bacteriana de *Enterococcus faecalis* en superficies del conducto radicular y túbulos dentinales en tercios medio y apical mientras que para los grupos A (Biospada 60), B (NaOCL 5,25%) y C (Biospada 60 + NaOCl 5,25%) se observaron los túbulos dentinales limpios, sin microorganismos residuales. (Figs 16 a 21.

1.8.2 Operacionalización de variables

(Ver tabla 1.)

1.8.3 Instrumento de Recolección de datos

Para la presente investigación se utilizó un instrumento de recolección de datos en el cual se registró la información sobre la cantidad de microorganismos encontrados en cada grupo de estudio después del proceso de irrigación ultrasónica pasiva con Hipoclorito de sodio 5,25% y Biospada 60.(Ver anexo B).

Tabla 1: Operacionalización de variables

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES							
VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	NATURA LEZA DE LA VARIABLE	DEFINICION TEORICA	DEFINICION OPERACIONAL	NIVEL DE MEDICIÓN	INDICADORES	ITEM
Efecto de irrigación	DEPENDIENTE	Cuantitativa	El microorganismo se asocia con mayor frecuencia en infecciones persistentes asociadas con falla endodóntica; es un coco facultativo grampositivo que puede aislarse hasta en un 35% de los	Unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC)	Discreta	Verificación de crecimiento de colonia	1
IRRIGANTE	INDEPENDIENTE	Cualitativa	Agente antimicrobial de larga duración que desinfecta en un solo paso y protege durante semanas hasta que se elimine por abrasión, inhibiendo el crecimiento de bacterias, hongos, moho, algas, levaduras, virus, protozoos y otros microorganismos	BIO-ESPADA	Nominal	Efectividad del irrigante frente a E. Faecalis.(Si/No)	2
			solución química que posee una alta alcalinidad (pH 11-12,5); es un agente oxidante de proteínas, elimina tejido necrótico, es irritante	Hipoclorito de sodio 5.25%			
ACTIVACION	INDEPENDIENTE	Cualitativa	Ha sido descrita como un excelente auxiliar en el proceso de limpieza final de los conductos radiculares, aumentando la eficiencia de las soluciones de irrigación en la remoción de detritos, microorganismos y capas de frotis, especialmente en áreas de dificultad anatómica	Ultrasonica Pasiva (PUI)	Nominal	Efectividad de la activación del irrigante frente a E. Faecalis.(Si/No)	3

1.8.4 Procesamiento de la información

Primero se establecerá el tamaño de la muestra seguida de la operacionalización de variables, una vez obtenidos los datos de la presente investigación se procesarán en el Real Statistics Versión 9.1.

1.9 Aspectos Éticos

Según la categoría planteada en el Artículo 11 de la Resolución N° 008430 de 1993 (expedida por el Ministerio de Salud de Colombia), y a la Resolución 2378 de 2008” (expedida por el Ministerio de la Protección Social) (37)(111)

Investigación con riesgo mínimo: Son estudios prospectivos que emplean el registro de datos a través de procedimientos comunes consistentes en: exámenes físicos o psicológicos de diagnóstico o tratamientos rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, electrocardiogramas, pruebas de agudeza auditiva, termografías, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, recolección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva, dientes deciduales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimientos profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y

1.10 Análisis Estadístico

Se realiza un análisis de exploratorio de datos con el objetivo de describir la muestra, las variables continuas se describieron con frecuencia, promedio, error

estándar, mediana, máximo, mínimo, rango intercuartílico, luego una prueba de Shapiro Wilk para determinar si las UFC presentaban o no distribución normal, una prueba de Kruskal-Wallis para el análisis comparativo de las UFC entre los grupos y finalmente una prueba POST HOC Nemenyi para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales.

1.10.1 Prueba Piloto

Este estudio fue aprobado por el comité de Ética de la Institución Universitaria Colegios de Colombia UNICOC (Bogotá). Inicialmente, se diseñó un protocolo en un modelo in vitro de infección intraconducto en dientes unirradiculares con cepas ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis*. Para el ensayo de este protocolo se realizó una prueba piloto, en la cual se utilizaron 4 grupos, cada uno con 4 tubos de dentina, el grupo A correspondía a Biospada 60, el grupo B a Hipoclorito de sodio 5,25% , grupo C Biospada60 + Hipoclorito de sodio 5,25% y el grupo D a Control donde los tubos de dentina fueron infectados y no se les practicó ningún protocolo de irrigación ni activación. Se procedió a inocular 100 ul de suspensión bacteriana en una escala de *McFarland* de 0,5 en los tubos de dentina estériles, y se dejaron incubando durante 18 días y día de por medio, las bacterias alimentaban con caldo BHI. Luego se realizó la irrigación ultrasónica pasiva de cada grupo para finalmente observar y contar UFC/ml a las 48 horas. Esta prueba ensayo piloto arrojó resultados favorables, aunque se evidenciaron errores durante el proceso que sirvieron para hacer ajustes correspondientes.

2. Resultados

Se utilizó el software Real Statistics para estimar tamaño de muestra para un ANOVA, encontrando que con una confianza del 95%, potencia 80%, efecto error del 0,61 , el tamaño de la muestra corresponde a 24 muestras por grupo. En la presente investigación se buscaba comparar la efectividad de cada irrigante de forma individual y combinada (Grupos A, B y C) por medio del recuento de unidades formadoras de colonia (UFC) respecto al grupo control o grupo D al cual no se le realizó ninguna irrigación (Gráfica 3). Los resultados de los recuentos de UFC de cada grupo se resumen en la (Tabla 1).

En el análisis descriptivo, el promedio mínimo de UFC fue 16.666,7 para el grupo C, seguido del grupo B de 33.333,3 siendo el doble del anterior, seguido del grupo A que presenta 8 veces más UFC que los grupos anteriores. (Tabla 3). Con la prueba de Shapiro Wilk se encontró que las UFC no presentaron distribución normal ($p > 0,05$), razón por la cual se aplicó la prueba de Kruskal Wallis para comparar los 4 grupos ($p < 0,05$) obteniendo valores con diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 3) Debido a esto se aplicó la prueba POC HOC Nemenyi para identificar las diferencias, encontrando que entre el grupo A y D existe una diferencia de 18.491.666,7 de UFC, igual sucedió entre el grupo B y D 18.708.333 de UFC, C y D con 18.725.000 de UFC, con promedios de diferencias estadísticamente significativas cercanos a los 19.000.000 de UFC. (Tabla 4)

Tabla 2. Conteo de UFC por solución irrigante

CONTEO UFC				
DIENTE	GRUPO A: BIOSPADA 60 (UFC/mL)	GRUPO B: HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% (UFC/mL)	GRUPO C: BIOSPADA 60 + HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% COMBINADO (UFC/mL)	GRUPO D: CONTROL (UFC/mL)
1	0,0	200.000,0	0,0	39.600.000,0
2	200.000,0	0,0	0,0	10.800.000,0
3	0,0	0,0	0,0	22.400.000,0
4	0,0	0,0	0,0	7.200.000,0
5	400.000,0	0,0	0,0	26.400.000,0
6	0,0	200.000,0	0,0	42.800.000,0
7	400.000,0	0,0	0,0	23.600.000,0
8	800.000,0	0,0	0,0	37.600.000,0
9	0,0	0,0	0,0	29.200.000,0
10	0,0	0,0	0,0	28.000.000,0
11	0,0	200.000,0	0,0	38.800.000,0
12	200.000,0	0,0	0,0	16.800.000,0
13	200.000,0	0,0	400.000,0	18.200.000,0
14	400.000,0	0,0	0,0	12.400.000,0
15	0,0	0,0	0,0	14.200.000,0
16	600.000,0	0,0	0,0	17.600.000,0
17	0,0	200.000,0	0,0	31.000.000,0
18	0,0	0,0	0,0	13.200.000,0
19	200.000,0	0,0	0,0	9.000.000,0
20	200.000,0	0,0	0,0	800.000,0
21	0,0	0,0	0,0	600.000,0
22	1.200.000,0	0,0	0,0	3.600.000,0
23	200.000,0	0,0	0,0	4.000.000,0
24	1.000.000,0	0,0	0,0	2.000.000,0
TOTAL	6.000.000,0	800.000,0	400.000,0	449.800.000,0
Recuento de Unidades Formadoras de Colonias UFC de Enterococcus faecalis después de la irrigación con Hipoclorito de sodio al 5,25%, Biospada 60 y la combinación de ambos.				

Tabla 3. Análisis descriptivo

	n	Mean	Standard Deviation	Median	Maximum	Minimum	IQR	SWp - value	Kruskal-Wallis Test
GRUPO A: BIOSPADA 60 (UFC/mL)	24	250.000,0	340.077	200.000,0	1.200.000,0	0,0	400.000,0	0,002 *	0,000*
GRUPO B: HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% (UFC/mL)	24	33.333,3	76.139	0,0	200.000,0	0,0	0,0	0,001 *	
GRUPO C: BIOSPADA 60 + HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% COMBINADO (UFC/mL)	24	16.666,7	81.650	0,0	400.000,0	0,0	0,0	0,000 *	
GRUPO D: CONTROL (UFC/mL)	24	18.741.666,7	13.152.679	17.200.000,0	42.800.000,0	600.000,0	19.750.000,0	0,261 **	

Lo siguiente indica que * $p < 0.05$ valores estadísticamente significativos; **

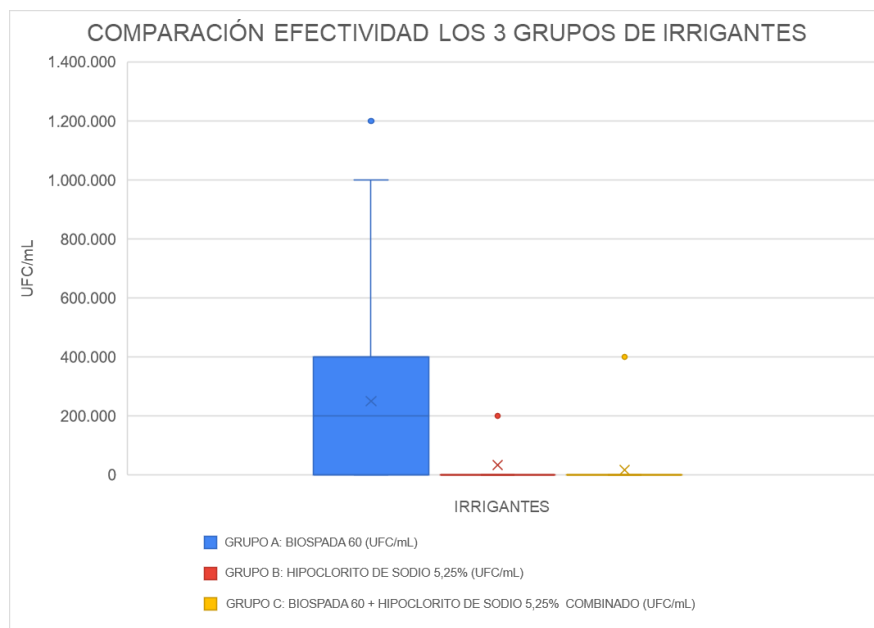
$p > 0.05$ valores no significativos estadísticamente.

Tabla 4. Prueba POC HOC de Nemenyi

Grupo 1	Grupo 2	mean	lower	Upper	p-value
GRUPO A: BIOSPADA 60 (UFC/mL)	GRUPO B: HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% (UFC/mL)	216.666,7	0,00	5.186.456,8	0,246
GRUPO A: BIOSPADA 60 (UFC/mL)	GRUPO C: BIOSPADA 60 + HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% COMBINADO (UFC/mL)	233.333,3	0,00	5.203.123,4	0,093
GRUPO A: BIOSPADA 60 (UFC/mL)	GRUPO D: CONTROL (UFC/mL)	18.491.666,7	13.521.876,58	23.461.456,8	0,000
GRUPO B: HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% (UFC/mL)	GRUPO C: BIOSPADA 60 + HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% COMBINADO (UFC/mL)	16.666,7	0,00	4.986.456,8	0,967
GRUPO B: HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% (UFC/mL)	GRUPO D: CONTROL (UFC/mL)	18.708.333,3	13.738.543,25	23.678.123,4	0,000
GRUPO C: BIOSPADA 60 + HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% COMBINADO (UFC/mL)	GRUPO D: CONTROL (UFC/mL)	18.725.000,0	13.755.209,91	23.694.790,1	0,000

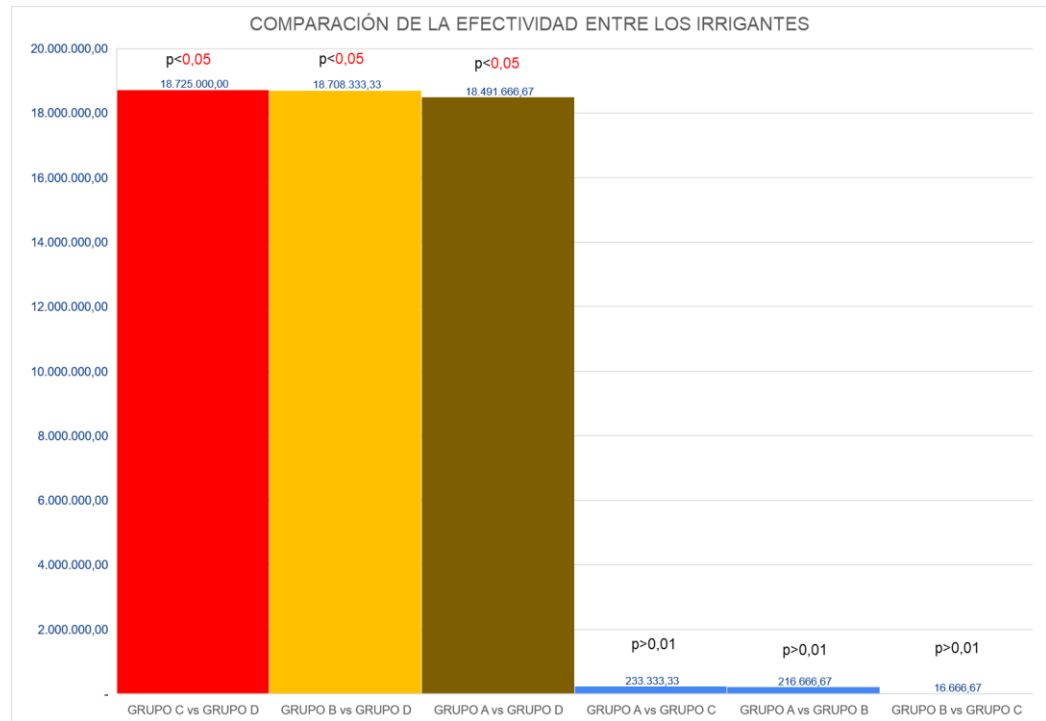
Se compararon 3 grupos donde se observó que el grupo A presenta dispersión de UFC entre 0 y 1.200.000 mientras que el grupo B y C tienden a centrarse entre 200.000 y 400.000 respectivamente. (Gráfica 1)

Gráfica 1: Comparación conteo UFC grupos A,B Y C.

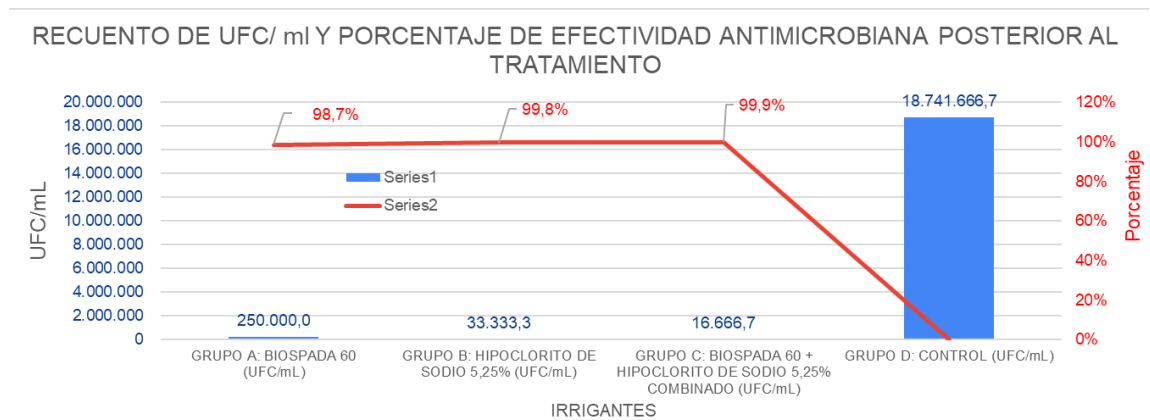


En los grupos A, B y C las UFC de *E. faecalis* disminuyeron significativamente $p < 0.05$ en comparación al grupo D además se puede observar que la efectividad de los irrigantes entre ellos mismos siendo $p > 0,01$ (Gráfica 2). El porcentaje de efectividad encontrado con respecto al grupo control fue de 98.7%, 99.8% y 99.9% respectivamente para el grupo A, B y C (gráfica 3). La aplicación de la irrigación ultrasónica pasiva (PUI) demostró que potencializa la reducción bacteriana.

Gráfica 2: Comparación de la efectividad entre los irrigantes según UFC.



Gráfica 3: Recuento de UFC/ ml y porcentaje de efectividad antimicrobiana posterior al tratamiento



3. Discusión

Los fracasos endodónticos son consecuencia de la prevalencia de bacterias en el espacio del conducto radicular. Numerosos irrigantes se han desarrollado y utilizado en los últimos años, pero desafortunadamente las comunidades microbianas establecidas en biopelículas son difíciles de erradicar, y las bacterias encapsuladas en biopelículas maduras son altamente resistentes a la actividad antimicrobiana.(112)(113) El presente estudio se realizó para evaluar la efectividad de Biospada 60 y el Hipoclorito de sodio al 5,25% activados con ultrasonido en la desinfección de tubos de dentina infectados con *Enterococcus faecalis*. Este microorganismo fue elegido porque comúnmente está involucrado en el fracaso del tratamiento endodóntico y ha demostrado ser muy persistente en condiciones anaeróbicas dentro del conducto radicular, (114)(115) encontrándose alrededor del 89,6% en infecciones secundarias y 67.5% en infecciones primarias.(48)

En este estudio se observó que el grupo C donde se aplicaron los irrigantes de forma combinada Biospada 60 + Hipoclorito de sodio 5,25% tuvieron una mayor efectividad en la desinfección de *Enterococcus faecalis*, en comparación con su aplicación de forma individual. Sin embargo, también se pudo evidenciar que Biospada 60 fue igual de efectivo que Hipoclorito de sodio 5,25%. De acuerdo con los hallazgos presentes, la efectividad en la desinfección también se atribuye a la irrigación ultrasónica pasiva donde se demostró que una activación de 3 ciclos con PUI de 20 segundos cada uno, produce limpieza y reducción

bacteriana favorables, lo que resulta beneficioso para el tratamiento endodóntico, ya que es un método que mejora el flujo del irrigante a las complejidades del sistema de conductos radiculares.(16) Este proceso se llevó a cabo con puntas de ultrasonido (DTE ED4) las cuales se reutilizaron previa desinfección por inmersión en Hipoclorito de sodio 5000 ppm por 15 minutos posterior flameación directa en la llama de 5-20 segundos, una técnica muy utilizada en el campo de la microbiología.(116)(117)

Biospada 60 cuyo principio activo es cloruro de Dimetiloctadecil[3-(trimetoxisilil)propil]amonio, contiene amonio cuaternario, según Bapat et al. las actividades antimicrobianas del amonio cuaternario contra *E. faecalis*, pueden conducir a resultados de tratamiento exitosos en odontología clínica ya interactúan con la membrana bacteriana y provoca la muerte por contacto. (118) Vale la pena señalar, que a la fecha no hay reportes en la literatura sobre la efectividad de Biospada 60 en Endodoncia, por esta razón, los resultados no se pueden comparar con estudios anteriores.

Adicionalmente se utilizó microscopía electrónica de barrido (SEM) para evaluar la presencia de biopelículas, así como los efectos de los protocolos de irrigación ultrasónica pasiva probados en estas comunidades microbianas de *Enterococcus faecalis*. El presente estudio, proporcionó un modelo anatómico bien estandarizado que permitió la comparación en los 3 grupos experimentales, 1 tubo de dentina en cada grupo, donde las imágenes de microscopía electrónica

de barrido, son consistentes con los resultados, ya que se observaron los túbulos dentinales libres de biopelícula de *Enterococcus faecalis*, demostrando así la efectividad de la irrigación ultrasónica pasiva con Biospada60 e Hipoclorito de Sodio 5,25%.

La microscopía electrónica de barrido generalmente se utiliza para observar biopelículas intrarradiculares, no obstante, con esta técnica solo se puede realizar una evaluación cualitativa o semicuantitativa de los especímenes observados.(119)

Como se mencionó anteriormente, no hay evidencia científica acerca de la efectividad del Bioespada 60 en endodoncia. Dado que en este estudio no existió una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo A Biospada 60 y el grupo B Hipoclorito de sodio al 5.25%, Biospada 60 puede llegar a ser un desinfectante potencial, de forma individual o como coadyuvante, mejorando el proceso de desinfección en el conducto radicular, pero se requieren estudios clínicos futuros para maximizar su uso y donde se estudie el componente activo de esta molécula en un modelo animal o celular que permita evaluar la toxicidad y posteriormente la realización de pruebas in- vivo.

4. Conclusiones

- Biospada 60 tuvo la misma efectividad antimicrobiana que Hipoclorito de sodio 5,25% en la eliminación de *E. faecalis* en el modelo propuesto.
- La combinación de Biospada 60 + Hipoclorito de sodio al 5,25% obtuvo menor UFC/ml, por lo que podría ser considerada como coadyuvante de la desinfección del conducto radicular.
- La activación ultrasónica pasiva potencializó la reducción bacteriana de *E. faecalis* en todos los irrigantes.

5. Recomendaciones.

- Para determinar la efectividad antibacteriana se debe tomar la muestra con la lima dentro del conducto radicular durante 3 momentos: Antes, después y 48 horas luego del protocolo de irrigación, para que los datos no se obtengan a partir de un grupo control sino del mismo diente tratado y así obtener resultados más precisos.
- Recurrir a la técnica de pulverización mediante molino de impactación electromagnético refrigerado con nitrógeno líquido que garantice la capacidad para recolectar la totalidad de microorganismos.
- Realizar investigaciones futuras en modelo animal o celular para evaluar la citotoxicidad, propiedades físicas y químicas, efectos sobre el barrillo dentinal y disolución de tejidos con Biospada 60.

6. Referencias Bibliográficas

1. Persoon IF, Özok AR. Definitions and Epidemiology of Endodontic Infections. *Curr Oral Heal Rep.* 2017;4:278–85.
2. Boutsoukis C, Arias- MT. Present status and future directions – - irrigants and irrigation methods. *Int Endod J.* 2022;55:588–612.
3. Jr JFS. Present status and future directions : Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J.* 2022;55:512–30.
4. Dioguardi M, Gioia G Di, Illuzzi G, Arena C, Carlo V, Caponio A, et al. Inspection of the Microbiota in Endodontic Lesions. *Dent J.* 2019;7:47:1–15.
5. Narayanan LL, Vaishnavi C. Endodontic microbiology. *J Conserv Dent.* 2010 Oct;13(4):233–9.
6. Singh H. Microbiology of Endodontic Infections. *J Dent Oral Heal.* 2016;2(5):2–5.
7. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus.* 2020 Mar;12(3):e7257.
8. Moreira RN, Pinto EB, Galo R, Falci SGM, Mesquita AT. Passive ultrasonic irrigation in root canal: systematic review and meta-analysis. *Acta Odontol Scand.* 2019;77(1):55–60.

9. Piazza A, Dal-fabbro R, Cosme-silva L, Duarte PCT, Loureiro C, Cust Z, et al. Effectiveness of Passive Ultrasonic Irrigation Protocols in Simulated Complex Root Canal Cavities. *Oral*. 2023;3:1–10.
10. Llana C, Forner L, Cambralla R, Lozano A. Effect of three different irrigation solutions applied by passive ultrasonic irrigation. *Restor Dent Endod*. 2015;7658:143–8.
11. Raura N, Garg A, Arora A, Roma M. Nanoparticle technology and its implications in endodontics : a review. *Biomater Res*. 2020;24:21:1–8.
12. Murugesan S, Rajakumaran A, Kumar BP, Balatandayoudam A, Mohankumar P, Reddy BN. Comparative Evaluation of the Efficacy of Novel Root Canal Irrigation Techniques on Reduction of *Enterococcus faecalis* Count: An In Vitro Study. *J Contemp Dent Pract*. 2020;21(12):1379–83.
13. Hoedke D, Kaulika N, Dommisch H, Schlafer S, Shemesh H, Bitter K. Reduction of dual-species biofilm after sonic- or ultrasonic-activated irrigation protocols: A laboratory study. *Int Endod J*. 2021;(August):1–10.
14. Konstantinidi E, Psimma Z, Chávez de Paz LE, Boutsoukis C. Apical negative pressure irrigation versus syringe irrigation: a systematic review of cleaning and disinfection of the root canal system. *Int Endod J*. 2017;50(11):1034–54.
15. Galván-Pacheco J, Vitales-Noyola M, González-Amaro AM, Bujanda-Wong H, Aragón-Piña A, Méndez-González V, et al. Evaluation of in vitro biofilm elimination

of *Enterococcus faecalis* using a continuous ultrasonic irrigation device. *J Oral Sci.* 2020 Sep;62(4):415–9.

16. Susila A, Minu J. Activated Irrigation vs. Conventional non-activated Irrigation in Endodontics - A Systematic Review. *Eur Endod J.* 2019;4(3):96–110.

17. Ng WNI, Marruganti C, Grandini S, Neelakantan P. Root canal debridement by negative pressure irrigation, ultrasonically activated irrigation and their combination. *J Oral Sci* [Internet]. 2021;63(3):286–8. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85109170286&doi=10.2334%2Fjosnugd.21-0095&partnerID=40&md5=a6c92cf9db7e27d4bfceadca2e7a3e94>

18. Haupt F, Meinel M, Gunawardana A, Hülsmann M. Effectiveness of different activated irrigation techniques on debris and smear layer removal from curved root canals: a SEM evaluation. *Aust Endod J* [Internet]. 2020;46(1):40–6. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85063400849&doi=10.1111%2Faej.12342&partnerID=40&md5=376260e01baa29a6a65779ea0d0dc889>

19. Silva EJNL, Rover G, Belladonna FG, Herrera DR, De-Deus G, da Silva Fidalgo TK. Effectiveness of passive ultrasonic irrigation on periapical healing and root canal disinfection: a systematic review. *Br Dent J* [Internet]. 2019;227(3):228–34. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0->

85070642689&doi=10.1038%2Fs41415-019-0532-

z&partnerID=40&md5=13819dab7e952c6421a530a9daf52bec

20. Mohammadi Z, Shalavi S, Moeintaghavi A, Jafarzadeh H. A Review Over Benefits and Drawbacks of Combining Sodium Hypochlorite with Other Endodontic Materials. 2017;661–9.

21. Poggio C, Arciola CR, Dagna A, Chiesa M, Sforza D, Visai L. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite-based irrigating solutions. 2010;33(11):654–9.

22. Gonzalez K, Fernandes C, Barciela B, César N, Rodrigues D, Lucieni M, et al. The Effectiveness of Three Irrigation Systems in the *Enterococcus faecalis* Reduction after Instrumentation with a Reciprocating Instrument. 2020;8–12.

23. Căpută PE, Retsas A, Kuijk L, Chávez de Paz LE, Boutsoukis C. Ultrasonic Irrigant Activation during Root Canal Treatment: A Systematic Review. J Endod [Internet]. 2019 Jan;45(1):31. Available from: <http://10.0.3.248/j.joen.2018.09.010>

24. Abu Hasna A, Pereira Da Silva L, Pelegriini FC, Ferreira CLR, de Oliveira LD, Carvalho CAT. Effect of sodium hypochlorite solution and gel with/without passive ultrasonic irrigation on *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and their endotoxins. F1000research [Internet]. 2020;9:642. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0->

85095676448&doi=10.12688%2Ff1000research.24721.1&partnerID=40&md5=345cf3af2a7191dd4378ff298023daa9

25. Vitalcom. Ficha técnica Biospada. :10642. Available from:
<http://www.vitalcom.co/assets/ficha-tecnica-biospada-125.pdf>
26. Sasanakul P, Ampornaramveth RS, Chivatxaranukul P. Influence of Adjuncts to Irrigation in the Disinfection of Large Root Canals. J Endod [Internet]. 2019;45(3):332–7. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239918308288>
27. Macías D, Bravo V, Echeverri D. Effect of sonic versus ultrasonic activation on aqueous solution penetration in root canal dentin . 2017;5–10.
28. Tabassum S, Khan FR. Failure of endodontic treatment: The usual suspects. Eur J Dent. 2016;10(1):144–7.
29. Metzger ZVI, Solomonov M, Kfir A. The role of mechanical instrumentation in the cleaning of root canals. 2013;87–109.
30. E.S. AKPATA and H. BLECHMAN. Bacterial Invasion of Pulpal Dentin Wall in vitro. J Dent Res. 1982;2–5.
31. Rôças IN, Siqueira JFJ, Santos KRN. Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. J Endod. 2004 May;30(5):315–20.
32. Jiang W, Yang K, Vachet RW, Xing B. Interaction between oxide nanoparticles and biomolecules of the bacterial cell envelope as examined by infrared spectroscopy. Langmuir. 2010 Dec;26(23):18071–7.

33. Windler L, Height M, Nowack B. Comparative evaluation of antimicrobials for textile applications. *Environ Int* [Internet]. 2013;53:62–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2012.12.010>
34. Schifman LA, Kasaraneni VK, Sullivan RK, Oyanedel-craver V, Boving TB. New Antimicrobially Amended Media for Improved Nonpoint Source Bacterial Pollution Treatment. *Environ Sci Technol*. 2015;49:14383–91.
35. Tseng C, Pan Z, Chang C. Application of a quaternary ammonium agent on surgical face masks before use for pre- decontamination of nosocomial infection-related bioaerosols. *Aerosol Sci Technol*. 2016;50(3):199–210.
36. Faghihzadeh F, Anaya NM, Schifman LA. Fourier transform infrared spectroscopy to assess molecular-level changes in microorganisms exposed to nanoparticles. *Nanotechnol Environ Eng*. 2016;1(1):1–16.
37. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 8430 DE 1993. 1993;1993(Octubre 4):1–19.
38. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics—Current Status and Future Directions. Vol. 18, *International Journal of Molecular Sciences*. 2017.
39. Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae KS, Xia T. Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *J Endod*. 1999 Jun;25(6):413–5.

40. Munson MA, Pitt-Ford T, Chong B, Weightman A, Wade WG. Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J Dent Res*. 2002 Nov;81(11):761–6.
41. Siqueira JFJ, Rôças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002 Feb;93(2):174–8.
42. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*. 2003 Jan;36(1):1–11.
43. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. *J Endod*. 2008 May;34(5):537–40.
44. Rôças IN, Siqueira JFJ. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol*. 2012 May;50(5):1721–4.
45. Nair M, Rahul J, Devadathan A, Mathew J. *Enterococcus faecalis* in Endodontic Infections : The Ultimate Survivor. *Res Rev J Dent Sci*. 2018;6(4):5–9.
46. Kranz S, Guellmar A, Braeutigam F, Tonndorf-Martini S, Heyder M, Reise M, et al. Antibacterial Effect of Endodontic Disinfections on *Enterococcus Faecalis* in Dental Root Canals-An In-Vitro Model Study. *Mater (Basel, Switzerland)*. 2021 May;14(9).

47. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol.* 2003 Apr;18(2):100–3.
48. Sedgley C, Nagel A, Dahlén G, Reit C, Molander A. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Endod.* 2006 Mar;32(3):173–7.
49. Hussein HH, Abood FM, Alhelal AG. Some Virulence Factors of *Enterococcus Faecalis* Isolated from Root Canal Infections Combined with Effect of Some Irrigation Solution against *E . Faecalis*. 2020;11(6):742–8.
50. Anshida VP, Kumari RA, Murthy CS, Samuel A. Extracellular matrix degradation by host matrix metalloproteinases in restorative dentistry and endodontics: An overview. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2020;24(2):352–60.
51. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev oral Biol Med an Off Publ Am Assoc Oral Biol.* 2004 Sep;15(5):308–20.
52. John G, Kumar KP, Gopal SS, Kumari S, Reddy BK. *Enterococcus faecalis* , a nightmare to endodontist : A systematic review. 2015;9(13):898–908.
53. Nohelia N, Salazar R, Gonzalo J, Ormeño S, Evelyn M, Izquierdo S. *Enterococcus faecalis* : patógeno de relevancia en los fracasos de tratamiento

endodóntico *Enterococcus faecalis* : pathogen of relevance in endodontic treatment failures. 2020;17(3):169–74.

54. Schreier E. Treating Infected Root-Canals with Kalium and Natrium. Am J Dent Sci. 1894 Apr;27(12):536–41.

55. Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation--literature review and case reports. Int Endod J. 2000 May;33(3):186–93.

56. Serper A, Ozbek M, Calt S. Accidental sodium hypochlorite-induced skin injury during endodontic treatment. J Endod. 2004 Mar;30(3):180–1.

57. Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and Toxic Effects of Established and Potential Root Canal Irrigants. J Endod. 1995;21(10):513–5.

58. Marais JT. Cleaning efficacy of a new root canal irrigation solution : a preliminary evaluation. Int Endod J. 2000;320–5.

59. García Delgado A, Martín-González J, Castellanos-Cosano L, Martín Jiménez M, Segura-Egea JJ. Sistemas ultrasónicos para la irrigación del sistema de conductos radiculares. Av Odontoestomatol. 2014;30(2):79–94.

60. Lenarda R Di, Cadenaro M, Sbaizero O. Effectiveness of 1 mol L $\pm$ 1 citric acid and 15 % EDTA irrigation on smear layer removal. Int Endod J. 2000;46–52.

61. Siqueira JF, Rqas N, Favieri A. Chemomechanical Reduction of the Bacterial Population in the Root Canal after Instrumentation and Irrigation with 1 %, Hypochlorite. 2000;26(6).
62. Filho MT, Leonardo MR, Silva LAB, An FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. 2002;735–9.
63. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2001 Sep;34(6):424–8.
64. González-López S, Camejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolaños-Carmona V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid, or 17% EDTA. *J Endod*. 2006 Aug;32(8):781–4.
65. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol*. 1986 Jun;57(6):370–7.
66. Iqbal A. Antimicrobial irrigants in the endodontic therapy. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2012 Jun;6(2):186–92.
67. Mohammadi Z. Chlorhexidine gluconate, its properties and applications in endodontics. *Iran Endod J*. 2008;2(4):113–25.
68. Gomes BPFA, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J*. 2013;24(2):89–102.

69. Shabahang S, Pouresmail M, Torabinejad M. In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite. *J Endod*. 2003 Jul;29(7):450–2.
70. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982 May;53(5):518–23.
71. Onçağ O, Hoşgör M, Hilmioğlu S, Zekioğlu O, Eronat C, Burhanoğlu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J*. 2003 Jun;36(6):423–32.
72. Seal GJ, Ng Y-L, Spratt D, Bhatti M, Gulabivala K. An in vitro comparison of the bactericidal efficacy of lethal photosensitization or sodium hypochlorite irrigation on *Streptococcus intermedius* biofilms in root canals. *Int Endod J*. 2002 Mar;35(3):268–74.
73. Steinberg D, Heling I, Daniel I, Ginsburg I. Antibacterial synergistic effect of chlorhexidine and hydrogen peroxide against *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *J Oral Rehabil*. 1999 Feb;26(2):151–6.
74. Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J*. 2012 Apr;45(4):363–71.
75. Shalavi S, Mohammadi Z. An Overview on a Promising Root Canal Irrigation Solution: QMix. *Iran Endod J*. 2021;16(2):71–7.

76. Zhang R, Chen M, Lu Y, Guo X, Qiao F, Wu L. Antibacterial and residual antimicrobial activities against *Enterococcus faecalis* biofilm: A comparison between EDTA, chlorhexidine, cetrimide, MTAD and QMix. *Sci Rep*. 2015 Aug;5:12944.
77. Elakanti S, Cherukuri G, Rao VG, Chandrasekhar V, Rao AS, Tummala M. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of QMix™ 2 in 1, sodium hypochlorite, and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *J Conserv Dent*. 2015;18(2):128–31.
78. Balić M, Lucić R, Mehadžić K, Bago I, Anić I, Jakovljević S, et al. The efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming and sonic-activated irrigation combined with QMiX solution or sodium hypochlorite against intracanal *E. faecalis* biofilm. *Lasers Med Sci*. 2016 Feb;31(2):335–42.
79. Zafar MS, Gazal G. Assessment of Antimicrobial Efficacy of MTAD , Sodium Hypochlorite , EDTA and Chlorhexidine for Endodontic Applications : An In vitro Study. *Middle East J Sci Res*. 2014;21(2):353–7.
80. Asna Ashari M, Fayaz F, Moezzi Ghadim N, Alim Marvasti L, Mehrabi Y. Evaluation of the antimicrobial effects of MTAD, NaOCl against selected endodontic pathogens. *Iran Endod J*. 2009;4(2):63–8.
81. He X, Jin S, Fan W, Fan B. Synergistic In Vitro Antimicrobial Activity of Triton X-100 and Metformin against *Enterococcus faecalis* in Normal and High-Glucose Conditions. *Microorganisms*. 2022 Jan;10(1).

82. Caritá AC, Mattei B, Domingues CC, de Paula E, Riske KA. Effect of Triton X-100 on Raft-Like Lipid Mixtures: Phase Separation and Selective Solubilization. *Langmuir*. 2017 Jul;33(29):7312–21.
83. Rodi PM, Bocco Gianello MD, Corregido MC, Gennaro AM. Comparative study of the interaction of CHAPS and Triton X-100 with the erythrocyte membrane. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Mar;1838(3):859–66.
84. Duan M, Sun Q, Fan W, Fan B. Enhanced antibacterial effect against *Enterococcus faecalis* by silver ions plus Triton X-100 with low concentrations and cytotoxicity. *Brazilian J Microbiol* [publication Brazilian Soc Microbiol. 2022 Mar;53(1):161–9.
85. Giardino L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. *J Endod*. 2006 Nov;32(11):1091–3.
86. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod*. 2009 May;35(5):711–4.
87. von der Fehr FR, Östby BN. Effect of edta and sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol* [Internet]. 1963;16(2):199–205. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030422063900331>

88. Goldberg F, Abramovich A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endod*. 1977 Mar;3(3):101–5.
89. Clarkson RM, Podlich HM, Savage NW, Moule AJ. A survey of sodium hypochlorite use by general dental practitioners and endodontists in Australia. *Aust Dent J*. 2003 Mar;48(1):20–6.
90. Prado M, Silva EJNL da, Duque TM, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA de, et al. Antimicrobial and cytotoxic effects of phosphoric acid solution compared to other root canal irrigants. *J Appl Oral Sci*. 2015;23(2):158–63.
91. Tennert C, Drews AM, Walther V, Altenburger MJ, Karygianni L, Wrbas KT, et al. Ultrasonic activation and chemical modification of photosensitizers enhances the effects of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis* root-canal isolates. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2015 Jun;12(2):244–51.
92. Giardino L, Savadori P, Generali L, Mohammadi Z, Del Fabbro M, De Vecchi E, et al. Antimicrobial effectiveness of etidronate powder (Dual Rinse®) HEDP) and two EDTA preparations against *Enterococcus faecalis*: a preliminary laboratory study. *Odontology*. 2020 Jul;108(3):396–405.
93. Gómez-Delgado M, Camps-Font O, Luz L, Sanz D, Mercade M. Update on citric acid use in endodontic treatment: a systematic review. *Odontology*. 2023 Jan;111(1):1–19.

94. Lorencová E, Vltavská P, Budinský P, Koutný M. Antibacterial effect of phosphates and polyphosphates with different chain length. *J Environ Sci Heal Part A, Toxic/hazardous Subst Environ Eng.* 2012;47(14):2241–5.
95. Prado M, Gusman H, Gomes BPFA, Simão RA. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. *J Endod.* 2011 Feb;37(2):255–8.
96. Irache JM. *Nanomedicina : nanopartículas con aplicaciones médicas.* 31.
97. Wang Y, Li P, Truong-Dinh Tran T, Zhang J, Kong L. Manufacturing Techniques and Surface Engineering of Polymer Based Nanoparticles for Targeted Drug Delivery to Cancer. *Nanomater (Basel, Switzerland).* 2016 Feb;6(2).
98. Gwinn MR, Vallyathan V. Nanoparticles: health effects--pros and cons. *Environ Health Perspect.* 2006 Dec;114(12):1818–25.
99. Vauthier C, Bouchemal K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. *Pharm Res.* 2009 May;26(5):1025–58.
100. Manshian BB, Poelmans J, Saini S, Pokhrel S, Jiménez J, Himmelreich U, et al. *Acta Biomaterialia* Nanoparticle-induced inflammation can increase tumor malignancy. *Acta Biomater* [Internet]. 2018;68:99–112. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.12.020>
101. Pandey RK, Prajapati VK. Molecular and immunological toxic effects of nanoparticles. *Int J Biol Macromol.* 2018 Feb;107(Pt A):1278–93.

102. Kim Y, Youn H, Kim J, Lee D, Go S, Park J-E, et al. Potential use of 3-(trimethoxysilyl)propyldimethyl octadecyl ammonium chloride as an antimicrobial and antiviral agent for the disinfection of personal protective equipment. Clin Exp Vaccine Res. 2020 Jul;9(2):174–8.
103. Weller RN, Brady JM, Bernier WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. J Endod. 1980 Sep;6(9):740–3.
104. Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: an insight into the mechanisms involved. J Endod. 1987 Mar;13(3):93–101.
105. Krell K V, Johnson RJ, Madison S. Irrigation patterns during ultrasonic canal instrumentation. Part I. K-type files. J Endod. 1988 Feb;14(2):65–8.
106. Lumley PJ, Walmsley AD, Walton RE, Rippin JW. Effect of precurving endosonic files on the amount of debris and smear layer remaining in curved root canals. J Endod. 1992 Dec;18(12):616–9.
107. Van Der Sluis LWM, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: A review of the literature. Int Endod J. 2007;40(6):415–26.
108. Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006 May;32(5):389–98.
109. Cunningham WT, Martin H, Pelleu GBJ, Stoops DE. A comparison of antimicrobial effectiveness of endosonic and hand root canal therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1982 Aug;54(2):238–41.

110. Solovyeva AM, Dummer PM. Cleaning effectiveness of root canal irrigation with electrochemically activated anolyte and catholyte solutions: a pilot study. *Int Endod J*. 2000 Nov;33(6):494–504.
111. Social M de S y P. Resolución 2378 DE 2008. 2008;2008(Junio 27):1–93.
112. A. Bystrom GS. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*. 1985;18:35–40.
113. Kovac J, Kovac D. Effect of irrigating solutions in endodontic therapy. *Bratisl Lek Listy*. 2011;112(7):410–5.
114. Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Gomes BPFA. Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Virulence Genes of *Enterococcus faecalis* Isolates from Teeth with Failure of the Endodontic Treatment. *J Endod*. 2016 Jul;42(7):1022–8.
115. Bulacio M de LÁ, Galván LR, Gaudioso C, Cangemi R, Erimbaue MI. *Enterococcus Faecalis* Biofilm. Formation and Development in Vitro Observed by Scanning Electron Microscopy. *Acta Odontol Latinoam*. 2015 Dec;28(3):210–4.
116. Takahashi M, Honzawa T, Tominaga R, Aoyagi H. Analysis of the influence of flame sterilization included in sampling operations on shake-flask cultures of microorganisms. *Sci Rep*. 2020 Jun;10(1):10385.
117. Richardson PS. Review: Flame sterilization. *Int J food Sci Technol*. 1987;22:3–14.

118. Bapat RA, Parolia A, Chaubal T, Yang HJ, Kesharwani P, Phaik KS, et al. Recent Update on Applications of Quaternary Ammonium Silane as an Antibacterial Biomaterial: A Novel Drug Delivery Approach in Dentistry. *Front Microbiol.* 2022;13:927282.
119. Bhuva B, Patel S, Wilson R, Niazi S, Beighton D, Mannocci F. The effectiveness of passive ultrasonic irrigation on intraradicular *Enterococcus faecalis* biofilms in extracted single-rooted human teeth. *Int Endod J.* 2010;43(3):241–50.

ANEXOS

Anexo A: Consentimiento informado para la donación de dientes naturales para estudio.



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA DONACION DE DIENTES NATURALES PARA ESTUDIO

La Facultad de Odontología de INSTITUCION UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA (UNICOC), da la educación necesaria para diagnosticar y tratar enfermedades de la boca y los dientes. Realiza investigaciones que se publican en revistas científicas, se presenta en congresos y cursos a los alumnos de la Facultad. Parte de las investigaciones que se realizan, utilizan los dientes que se extraen por indicación del odontólogo y/o especialista porque el diente no se puede mantener en boca.

A través de este documento, queremos solicitar la donación de su o sus dientes extraídos para utilizarlos en educación e investigación.

Con el o los diente que usted dona realizaremos:

1. **Estudios Histopatológicos:** Se refiere a los estudios que detallan las características del diente cuando es visto con un microscopio. Se puede investigar sobre la parte dura del diente (esmalte, dentina y cemento), como también sobre el nervio (pulpa dental) del diente.
2. **Estudios de Biomateriales:** Se refiere al estudio de los materiales utilizados para realizar las obturaciones o restauración y rehabilitación de los dientes.
3. **Estudios de caries:** Estudios acerca del avance y efectos de la caries en la estructura del diente.
4. **Estudios de Biología celular:** Son estudios que investigan las células que componen el diente y la pulpa dental.

Si usted NO desea que se utilice su diente o dientes para algún tipo de estudio en especial o para ningún tipo de estudio, lo puede indicar y su decisión será respetada

Si usted SI desea donar su o sus dientes para investigación, se pueden almacenar por un tiempo indefinido.

La donación del diente o los dientes será anónima, es decir, no se podrá identificar de quien es el o los dientes. A sí mismo, no se pagará ni se darán incentivos por el o los dientes que sean donados para investigación.

Toda investigación que se realice contará con la revisión del **Comité de Ética de Investigación Odontológica de UNICOC Facultad de Odontología**, que se encarga de revisar todos los protocolos de investigación que se realizan con tejidos de seres humanos o animales y se preocupa por que se protejan los derechos de quienes participan en las investigaciones.

Marque con **X** el cuadro que corresponda

☐	NO deseo donar mi(s) diente(s) y quiero que sea(n) descartado(s)
☐	SI deseo donar mi(s) diente(s) para educación e investigación

He leído la información o se me ha leído. He tenido la oportunidad de hacer preguntas las cuales han sido contestadas satisfactoriamente. Consiento de manera voluntaria donar mi diente o mis dientes de la manera y para los propósitos indicados anteriormente.

Nombre del paciente:

Firma del paciente o acudiente y documento:

Numero de dientes donados:

Firma y sello profesional que realiza la extracción:

Fecha y lugar:

Anexo B. Instrumento de Recolección de Datos.

					
EFFECTIVIDAD DE LA ACTIVACIÓN ULTRASÓNICA CON BIOSPADA EN TUBOS DE DENTINA FRENTE A ENTEROCOCCUS FAECALIS, ESTUDIO IN VITRO.					
INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS					
GRUPOS DE ESTUDIO		GRUPO A: BIOSPADA 60 (UFC/mL)	GRUPO B: HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% (UFC/mL)	GRUPO C: BIOSPADA 60 + HIPOCLORITO DE SODIO 5,25% COMBINADO (UFC/mL)	GRUPO D: CONTROL (UFC/mL)
D I E N T E	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	7				
	8				
	9				
	10				
	11				
	12				
	13				
	14				
	15				
	16				
	17				
	18				
	19				
	20				
	21				

Anexo C: Ficha técnica de Biospada 60



Material Safety Data Sheet

Biospada Plus



1. Identification of Substance & Supplier

Product Name: Biospada Plus 60

Recommended Uses: Disinfectant, cleaner and antimicrobial protector

Company Identification: Katan Technologies Pty Ltd (ABN 34 160 556 061)
Suite 299/79 Longueville Road
Lane Cove NSW 2067
Australia

Emergency Telephone Number: Int'l +1 352 323 3500 (24 hrs) INFOTRAC

2. Hazards Identification

This product is an approved substance under the Hazardous Substances and New Organisms Act (HSNO), Approval number **HSR002530**, Cleaning Products (Subsidiary Hazard) Group Standard 2006 and is classified as follows:

HSNO Classification	HSNO Hazard Statement
6.03	Substances that are mildly irritating to the skin.
6.04	Substances that are irritating to the eyes.
9.1D	Substances that are slightly harmful to the aquatic environment or are otherwise designed for biocidal action.

Precautionary: Do not get in eyes or on clothing.
Avoid contact with skin or clothing, and avoid breathing vapour.
Wear protective eyewear (goggles or face shield).
Wash thoroughly with soap and water after handling.

Potential health effects:

Eyes: Direct contact will cause mild but temporary eye injury.
Skin: May cause slight irritation.
Ingestion: May be harmful if swallowed in large quantities.
Inhalation: Harmful if inhaled for long periods.
Carcinogens: No



Soak up with an inert material such as sawdust or absorbent.
For small spills, hose away with water.
For large spills, transfer to suitable container for disposal.

7. Handling and storage

Handling: No approved handlers required.
Precautions: Avoid contact with eyes. Wear proper eye protection.
Storage: Keep in a closed container when not in use.
Store away from heat and direct sunlight.
Recommended storage temperature is between 10°C and 40°C.

Section 7 notes: No special precautions. Avoid freezing contents.

8. Exposure controls/personal protection

Workplace Exposure Standards: A workplace exposure standard (WES) has not been established for this substance.

Engineering controls: Ready access to running water and/or eyewash stations.

Personal Protective Equipment: General ventilation.
Eye protection and gloves are recommended for bulk transfer and handling.

9. Physical and chemical properties

Physical state: Liquid at 25°C
Appearance/colour: Clear
Odour: Amine
Specific gravity (68°F/20°C): 1.0 g/ml
Solubility in water: Complete
pH: 5.9
Freezing point: < 0°C
Boiling point: 100°C
Melting point: N/A
Vapour pressure: Not available
Viscosity (8 48°F/20°C): < 85.5 mPa.s
Volatile content: N/A

Section 9 notes: None

10. Stability and reactivity

Stability: Under normal conditions this material is stable.
Hazardous polymerization: Hazardous polymerization will not occur.
Conditions to avoid: Temperatures > 50°C; Freezing



Medical conditions generally aggravated by exposure: Not known

The above listed potential effects of overexposure are based on actual data, results of studies performed upon similar compositions, component data, and/or expert review of the product

3. Composition/information on ingredients

Component	CAS Number	% Weight
3-(Dimethoxyethyl)propyl dimethyl octadecyl ammonium chloride	27668-52-6	0.61%
Alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride	68404-85-1	0.25%
Didecyl dimethyl ammonium chloride	7178-51-5	0.13%
Octyl decyl dimethyl ammonium chloride	32426-11-2	0.16%
Dioctyl dimethyl ammonium chloride	5538-94-3	0.09%
Deionized water	7732-18-5	98.75%

The above information is not intended for use in preparing product specifications.

4. First aid measures

Primary routes of exposure:

Eyes: Hold eye open and flush with a steady, gentle stream of water for 15-20 minutes. If present remove contact lenses after the first 5 minutes, then continue rinsing. Call a poisons control centre or doctor for treatment advice.

Skin: Take off contaminated clothing. Rinse skin immediately with plenty of water for 15-20 minutes. Call a poisons control centre or doctor for treatment advice.

Ingestion: Have the person sip a glass of water if able to swallow. Do not induce vomiting unless told to do so by a poisons control centre or doctor. Do not give anything by mouth to an unconscious person.

Inhalation: Move person to fresh air. If not breathing, give artificial respiration. Seek medical attention.

Recommended first aid facilities: Ready access to running water.

5. Fire fighting measures

Fire and explosion hazards: None
Flashpoint: N/A
Hazards decomposition products: N/A
Stable extinguishing media: N/A
Special firefighting procedures: No special precautions required
HAZCHEM code: N/A

6. Accidental release measures

Spills or Leaks: Wear proper eye protection.
This material will be slippery if spilled.



Incompatible materials to avoid: Acids, alkalis, strong oxidising agents, anionic surfactants.

Hazardous decomposition products: None

Section 10 notes: None

11. Toxicological information

Acute oral toxicity: LD50 Rat (oral) > 5000 mg/kg.
Acute dermal toxicity: LD50 Rabbit (dermal) > 5000 mg/kg.
Inhalation toxicity: N/A
Acute eye irritation test: Mild reversible eye irritant.
Acute dermal sensitivity: Not a dermal sensitizer.
CMR toxicants: Negative for CMR.

Section 11 notes: The US EPA has stated in their Reregistration Eligibility Decisions (RED) for Trimethoxyl Quaternary Ammonium Chloride Compounds, Alkyl Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride (ADBAC) and Aliphatic Alkyl Quaternaries (DAQAC) that there are no concerns for carcinogenicity based on results of mutagenicity studies.

12. Ecological information

Aquatic toxicity: Slightly harmful to the aquatic environment.
Soil toxicity: No data available.
Terrestrial vertebrate toxicity: Non toxic.
Terrestrial invertebrate toxicity: No data available.
HSNO classification: 9.1D

Ecotoxicological effects: Do not discharge effluent containing this product into lakes, streams, ponds, estuaries, oceans, or other waters unless in accordance with requirements of the local government authority and the permitting authority has been notified in writing prior to discharge. Do not discharge effluent containing this product into sewer systems without previously notifying the local sewage treatment plant authority.

Section 12 notes: None

13. Disposal considerations

Restrictions: There are no product specific restrictions.
Waste Disposal Method: Waste resulting from the use of this product may be disposed of on site. If this waste can not be disposed of by use according to the label instructions, contact your local Environmental Control Agency for guidance.

Anexo D: Invima Biospada 60



República de Colombia
Ministerio de Salud y Protección Social
Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos - INVIMA

RESOLUCIÓN No. 2013033794 DE 14 de Noviembre de 2013
Por la cual se concede un Registro Sanitario

El Director de Dispositivos Médicos y otras Tecnologías del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA, en ejercicio de las facultades Legales conferidas en el Decreto 2078 de 2012, decreto Reglamentario 4725 de 2005, ley 1437 de 2011 y ley 962 de 2005

CONSIDERANDO

QUE ANTE ESTE INSTITUTO SE HA SOLICITADO LA CONCESIÓN DE UN REGISTRO SANITARIO AUTOMÁTICO CON BASE EN LA VERIFICACIÓN DE LA DOCUMENTACIÓN TÉCNICA LEGAL ALLEGADA ANTE LA DIRECCIÓN DE DISPOSITIVOS MÉDICOS Y OTRAS TECNOLOGÍAS, EMITIENDO CONCEPTO FAVORABLE PARA LA EXPEDICIÓN DE ESTE REGISTRO SANITARIO, EN CONSECUENCIA A LO ANTERIOR, DE CONFORMIDAD CON EL ARTÍCULO 57 DE LA LEY 962 DE 2005 EL INVIMA REALIZARÁ EL CONTROL POSTERIOR DENTRO DE LOS QUINCE (15) DÍAS SIGUIENTES A SU EXPEDICIÓN.

RESUELVE

ARTÍCULO PRIMERO.- CONCEDER REGISTROS SANITARIOS POR EL TÉRMINO DE DIEZ (10) AÑOS A
PRODUCTO: DESINFECTANTE PARADISPOSITIVOS MÉDICOS Y EQUIPOS MÉDICOS - BIOSPADAPLUS 30 Y BIOSPADAPLUS 60
REGISTRO SANITARIO NO.: INVIMA2013DM0010641 VIGENTE HASTA:
TIPO DE REGISTRO: FABRICARY VENDER
TITULAR(ES): KATANTECH COLOMBIAS A.S. CONDOMINIO EN BOGOTÁ, D.C.
FABRICANTE(S): PRODUCCION Y GESTION A.S. CONDOMINIO EN FUNZA, CUNDINAMARCA
TIPO DE DISPOSITIVO: NO INVASIVO
RIESGO: IIA
COMPOSICIÓN: COMPOSICIÓN BIOSPADAPLUS 30: 3-(TRÍ-HIDROXISILYL)PROPYL DIMETHYL OCTADECYL AMMONIUM CHLORIDE (COMUESTO DE AMONIO CUATERNARIO) <0,30%, ALKYL (C80% C14, 25% C12, 15% C16) DIMETHYL BENZYL AMMONIUM CHLORIDE/DIOCTYL DIMETHYL AMMONIUM CHLORIDE <0,18%, OCTYL DECYL DIMETHYL AMMONIUM CHLORIDE/DIOCTYL DIMETHYL AMMONIUM CHLORIDE <0,12%, AGUA DESIONIZADA <99,4%. COMPOSICIÓN BIOSPADAPLUS 60: 3-(TRÍ-HIDROXISILYL)PROPYL DIMETHYL OCTADECYL AMMONIUM CHLORIDE (COMUESTO DE AMONIO CUATERNARIO) <0,81%, ALKYL (C80% C14, 25% C12, 15% C16) DIMETHYL BENZYL AMMONIUM CHLORIDE/DIOCTYL DIMETHYL AMMONIUM CHLORIDE <0,38%, OCTYL DECYL DIMETHYL AMMONIUM CHLORIDE/DIOCTYL DIMETHYL AMMONIUM CHLORIDE <0,25%, AGUA DESIONIZADA <98,78%
USOS: DESINFECTANTE PARADISPOSITIVOS MÉDICOS Y EQUIPOS MÉDICOS
PRESENTACIÓN COMERCIAL: CONTENEDOR POR 1.000 LITROS, GARRAFA POR 200, 20, 5, 1 LITRO, LITRO Y BOTELLA POR 500 Y 200 ML.
VIDA ÚTIL: 2 AÑOS
EXPEDIENTE NO.: 20089448
RADICACIÓN NO.: 2013132086
FECHA DE RADICACIÓN: 14/11/2013

ARTÍCULO SEGUNDO.- CONTRA LA PRESENTE RESOLUCIÓN PROCEDE ÚNICAMENTE EL RECURSO DE REPOSICIÓN, QUE DEBERÁ INTERPONERSE ANTE EL DIRECTOR DE DISPOSITIVOS MÉDICOS Y OTRAS TECNOLOGÍAS, DENTRO DE LOS DIEZ (10) DÍAS SIGUIENTES A SU NOTIFICACIÓN, EN LOS TÉRMINOS SEÑALADOS EN EL CÓDIGO DE PROCEDIMIENTO ADMINISTRATIVO Y DE LO CONTENCIOSO ADMINISTRATIVO.

ARTÍCULO TERCERO.- LA PRESENTE RESOLUCIÓN RIGE A PARTIR DE LA FECHA DE SU EJECUTORIA.

ARTÍCULO CUARTO.- LOS DERECHOS QUE SE DERIVAN DE ESTA RESOLUCIÓN QUEDARÁN SUJETAS AL CONTROL POSTERIOR QUE DEBE REALIZAR EL INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS INVIMA DE CONFORMIDAD CON LO PREVISTO POR EL ARTÍCULO 22 DEL DECRETO 4725 DE 2005.

COMUNIQUESE NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

DADA EN BOGOTÁ, C.A. LOS 14 DE NOVIEMBRE DE 2013

ESTE ESPACIO, HASTA LA FIRMA, SE CONSIDERA EN BLANCO.

EL KIN HERNÁNDO TALVARO CIFUENTES
DIRECTOR DE DISPOSITIVOS MÉDICOS Y OTRAS TECNOLOGÍAS

VsBoTécnico:
VsBoLegal:
Aprobó:

Anexo E: Evidencias fotográficas

Fotografías



Fig1: Tubo de dentina 10mm



Fig 2: Esterilización de la muestra

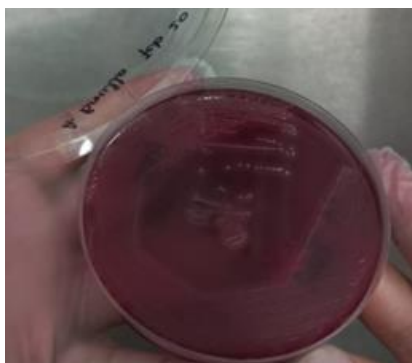


Fig 3: Cepa ATCC 29212 *E. faecalis*



Fig4: Inoculación



Fig 5: Incubación en CO2.



Fig 6: Tubos de dentina agrupados



Fig 7: Administración de irrigante

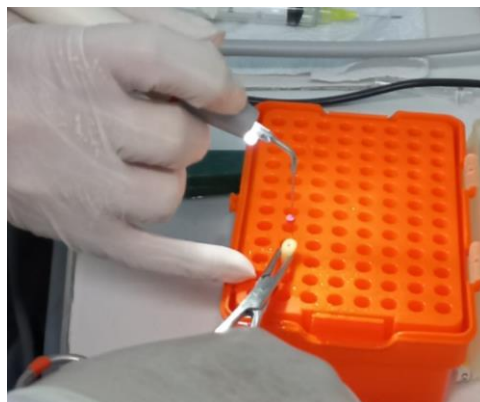


Fig8: Irrigación Ultrasónica Pasiva



Fig9: Muestra extraída con lima N° 80



Fig10: Agitación con vòrtex

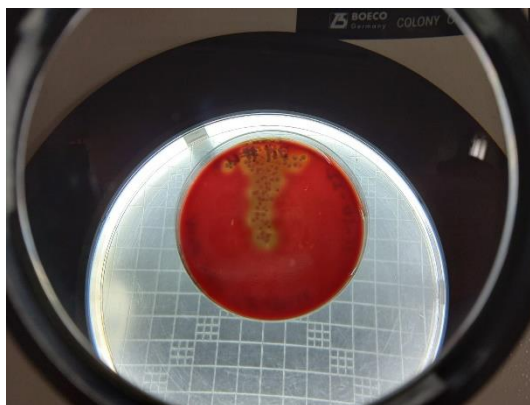


Fig11: Conteo UFC en contador de colonias

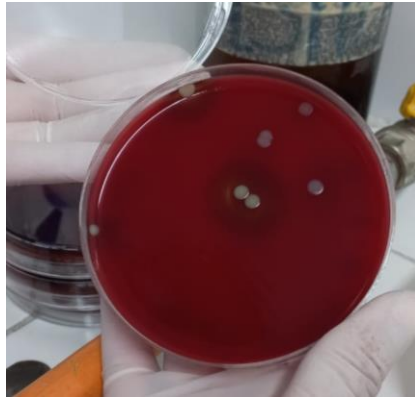


Fig12: Grupo A: UFC Biospada

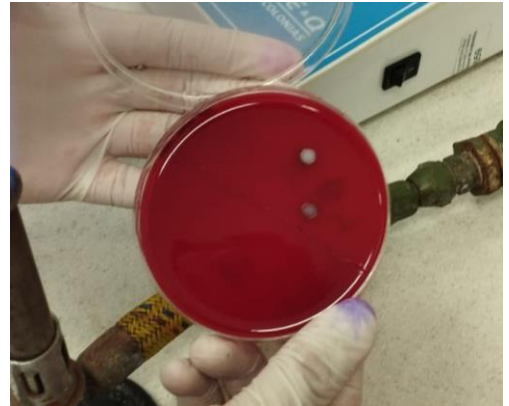


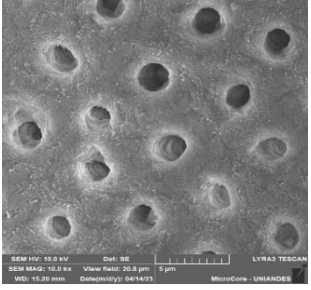
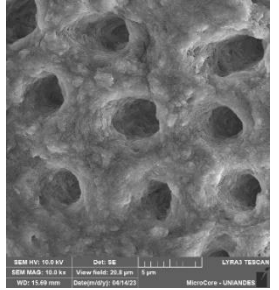
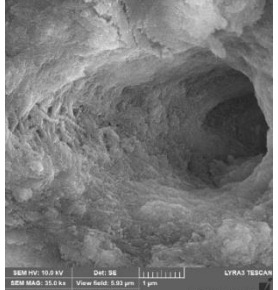
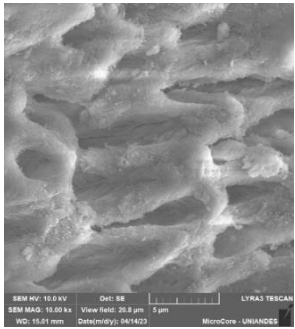
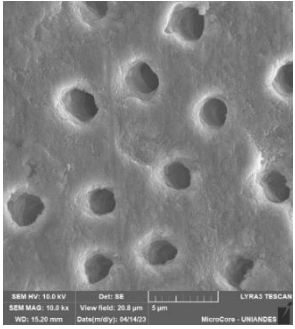
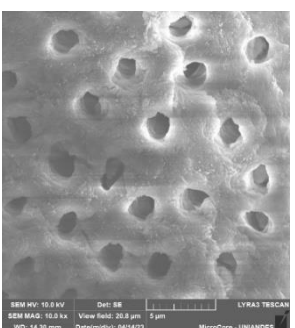
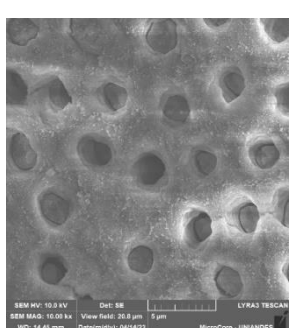
Fig13: Grupo B: UFC Hipoclorito de sodio

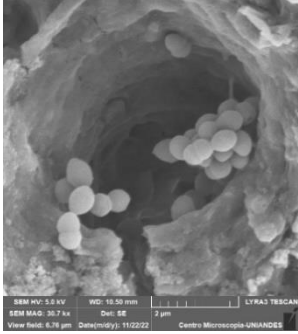
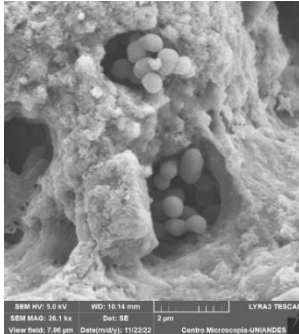
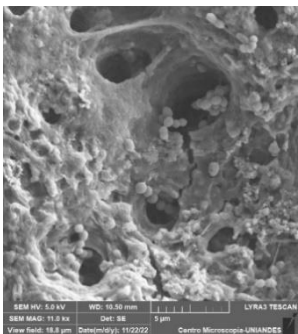


Fig14: Grupo C UFC Combinado



Fig15: UFC Grupo D control

GRUPO A	 Fig 16: Tercio medio aumento 10.0 kx	 Fig 17: Tercio apical aumento 10.0 kx	 Fig 18: Túbulo dentinal del tercio apical aumento 35.0 kx
GRUPO B	 Fig 19: Tercio medio aumento 10.00 kx	 Fig 20: Tercio medio aumento 10.0 kx	
GRUPO C	 Fig 21: Tercio medio aumento 10.0 kx	 Fig 22: Tercio apical aumento 10.00 kx	

G R U P O D	 Fig 23: Invasión de <i>Enterococcus faecalis</i> en túbulo dentinal del tercio apical (aumento 30,7 kx)	 Fig 24: Invasión de <i>Enterococcus faecalis</i> en túbulos dentinales de tercio apical (aumento 26,1 kx)	 Fig 25: Colonización de <i>Enterococcus faecalis</i> en superficie del conducto radicular y túbulos dentinales del tercio medio (aumento 11.0 kx)
--	--	---	--