



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Estomatología
Maestría en Endodoncia

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

AUTOR:

M.E. Norma Laura Mares Segura

Tesis presentada para optar por el título de Maestra en Endodoncia

Junio 2022, Maestría en Endodoncia, UASLP, Todos los derechos reservados

DIRECTOR Dr. Héctor Eduardo Flores Reyes

CO-DIRECTORA Dra. María Verónica Méndez González

ASESORA M.C. Selene Velázquez Moreno



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Estomatología
Maestría en Endodoncia

M.E. Norma Laura Mares Segura

Tesis presentada para optar por el título de Maestra en Endodoncia

Junio 2022, Maestría en Endodoncia, UASLP, Todos los derechos reservados

DIRECTOR Dr. Héctor Eduardo Flores Reyes

Profesor- Investigador
Maestría en Endodoncia
Facultad de Estomatología, UASLP
San Luis Potosí, México

CO-DIRECTORA Dra. María Verónica Méndez González

Profesor- Investigador
Maestría en Endodoncia
Facultad de Estomatología, UASLP
San Luis Potosí, México

ASESORA M.C. Selene Velázquez Moreno

Profesor de la Maestría en Endodoncia
Maestría en Endodoncia
Facultad de Estomatología, UASLP
San Luis Potosí, México



**Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Estomatología
Maestría en Endodoncia**

**Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de
Enterococcus faecalis intraconducto del sistema de
instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y
Protaper Gold™. Estudio *in vitro***

Trabajo de Grado Aprobado para su presentación en el nombre de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Estomatología, Maestría en Endodoncia, por las siguientes autoridades.

Dr. Ricardo Martínez Ríder
Director de la Facultad de Estomatología

Dra. Yolanda Hernández Molina
Jefa de la División de Posgrados de la Facultad de Estomatología

Dra. María Verónica Méndez González
Coordinadora de la Maestría en Endodoncia

Junio 2022, Maestría en Endodoncia, UASLP, México



**Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Estomatología
Maestría en Endodoncia**

**Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de
Enterococcus faecalis intraconducto del sistema de
instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y
Protaper Gold™. Estudio *in vitro***

Trabajo de Grado Aprobado para su presentación en el nombre de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Estomatología, Maestría en Endodoncia, por los siguientes asesores.

Dr. Héctor Eduardo Flores Reyes
DIRECTOR DE TESIS

Dra. María Verónica Méndez González
CO-DIRECTORA DE TESIS

M.C. Selene Velázquez Moreno
ASESORA

Junio 2022, Maestría en Endodoncia, UASLP, México



**Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Estomatología
Maestría en Endodoncia**

**Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de
Enterococcus faecalis intraconducto del sistema de
instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y
Protaper Gold™. Estudio *in vitro***

Trabajo de Grado Aprobado para su presentación en el nombre de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Estomatología, Maestría en Endodoncia, por el siguiente jurado.

Dr. Ricardo Oliva Rodríguez
Presidente

Dra. Diana María Escobar García
Secretaria

Dr. Héctor Eduardo Flores Reyes
Vocal

Junio 2022, Maestría en Endodoncia, UASLP, México

DEDICATORIA

A Dios por permitirme vivir esta etapa que me lleno de aprendizaje y experiencias que guardaré siempre en mi corazón.

A los seres que más amo, mis padres, Rogelio Mares Aguilar y Gloria Segura Méndez por ser mi apoyo incondicional e impulsarme a superarme día a día, quienes me tienden sus brazos y son mi total refugio.

A mis hermanos Sonia, Myrla y Eduardo por estar presentes en cada fase de mi vida, mostrarme siempre su cariño y alentarme a alcanzar mis metas y no rendirme.

AGRADECIMIENTOS

A mi **Dios** por la vida y por permitirme conocer a las personas que me acompañaron en el cumplimiento de esta meta.

A mis padres por apoyarme y ser mi sostén incondicional impulsándome a superarme tanto profesional como personalmente.

Dra. Verónica Méndez por todos los conocimientos transmitidos, por brindarme su tiempo y total apoyo para la elaboración de este proyecto.

Dr. Héctor Flores por el tiempo brindado a este proyecto, por todas sus aportaciones y su experiencia para enriquecer mi trabajo.

Maestra Selene por toda su paciencia y conocimiento, por hacerme reír y aligerar mis días pesados, además de toda la ayuda, tiempo y dedicación para concluir con satisfacción este trabajo.

Dra. Verónica Zavala por ser tan linda persona y apoyarme con la observación al MEB.

Dr. Ricardo Oliva y **Dra. Diana Escobar** por el tiempo, interés y participación en este proyecto.

A **Dany Tello** por su tiempo y apoyo para la parte experimental de este trabajo.

A mis catedráticos: **Dra. Verónica, Maestra Anita, Dr. Ricardo Oliva, Dra. Mariana, Dr. Alejandro Aldrete, Dra. Claudia Dávila, Dr. Fernando Torres** por transmitirme sus conocimientos y experiencias ayudándome a cumplir esta meta.

A mis Instructores de clínica, **Dra. Claudia Casillas, Dr. Francisco Ducoing, Dra. Karlita, Dra. Ericka y Dra. Lupita** por transmitirme su experiencia y darme consejos para brindar mejor atención a mis pacientes, además de permitirme conocerlos como personas y convertirse en mis amigos y colegas.

A mis compañeros **generación E-29** por formar parte de mi formación convirtiéndose en mis amigos y lograr juntos este gran sueño. Les deseo lo mejor.

A **Hildita** y **Maribel** por orientarme cada que lo necesite.

A **Maribel Gutiérrez** y **Angie** por siempre escucharme, su apoyo en la clínica y darme palabras de aliento.

A la **Maestría en Endodoncia** por abrirme sus puertas y permitirme cumplir esta meta.

Al grupo **Kavo Kerr**, por su invaluable apoyo y aportación a este trabajo de investigación y particularmente al **Dr. Carlos Muñoz** por estar al pendiente y su atenta colaboración.



Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio in vitro by Norma Laura Mares Segura is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Estomatología
Maestría en Endodoncia

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

AUTOR:

M.E. Norma Laura Mares Segura

Tesis presentada para optar por el título de Maestra en Endodoncia

Junio 2022, Maestría en Endodoncia, UASLP, Todos los derechos reservados

Contenido

Resumen	
1. Introducción	1
2. marco teórico	2
2.1 Importancia de la presencia de microorganismos en el conducto radicular ...	2
2.2 Biofilm intraconducto	5
2.3 Smear Layer.....	6
2.4 <i>Enterococcus faecalis</i>	7
2.5 Uso de irrigantes para la eliminación de smear layer y reducción bacteriana	9
2.6 Importancia de la preparación mecánica del conducto radicular.....	10
2.6.1 Antecedentes de la instrumentación mecanizada.....	11
2.7 Descripción de los sistemas de instrumentación.....	13
2.7.1 ZenFlex™	13
2.7.2 Hyflex™ EDM.....	15
2.7.3 Protaper Gold™	18
3. Justificación	23
3.1 Pregunta de investigación:	24
4. Objetivos.....	24
4.1 Objetivo general:	24
4.2 Objetivos específicos:	24
5. Hipotesis	25
6. Metodología	25
6.1 Lugar de realización	26
6.2 Diseño de estudio	26
6.3 Criterios de selección	26
6.3.1 Criterios de inclusión	26
6.3.2 Criterios de exclusión	26
6.3.3 Criterios de eliminación	26
6.4 Definición conceptual y operacional de las variables	27
6.4.1 Variables independientes	27
6.4.2 Variables dependientes	27
6.5 Análisis estadístico.....	29

6.6	Consideraciones éticas	29
6.7	Fase experimental.....	30
6.7.1	Recolección y preparación de muestras.....	30
6.7.2	Fase microbiológica.....	34
6.7.3	Etapa de instrumentación	37
6.7.4.2	Observación al microscopio electrónico de barrido (MEB)	43
7.	Resultados.....	44
	Reducción de carga bacteriana	44
	Análisis estadístico	49
	Observación del tercio apical mediante microscopia electrónica de barrido (MEB).....	60
8.	Discusión	69
	Conclusión.....	72
	Perspectivas.....	73
9.	Referencias bibliográficas.....	74

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Autor:

M.E. Norma Laura Mares Segura

RESUMEN

Introducción: El objetivo del estudio fue evaluar la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *E. faecalis* utilizando ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™.

Metodología: Cincuenta y cinco premolares mandibulares con conducto radicular único y recto fueron seleccionados, se inocularon durante 30 días para formación de biofilm de *E. faecalis*. Se dividieron en 3 grupos experimentales para ser sometidos a preparación biomecánica con cada uno de los sistemas (Hyflex™ EDM, ZenFlex™ y Protaper Gold™). Se utilizaron cinco piezas no contaminadas como controles negativos. Las muestras bacterianas se recolectaron con puntas de papel pre y post-instrumentación para cuantificar la carga bacteriana mediante el conteo UFC. La limpieza se evaluó mediante observación al MEB; para el análisis estadístico se utilizó prueba de Shapiro-Wilk para normalidad, Anova de una vía como análisis paramétrico, T-student para la comparación interna pre y post-instrumentación y Prueba de Tukey y Bonferroni para la comparación entre grupos.

Resultados: No hubo diferencia estadísticamente significativa en la limpieza y en la reducción bacteriana entre los tres sistemas de instrumentación.

Conclusión: El nuevo sistema ZenFlex™ mostró la misma reducción bacteriana respecto a Hyflex™ EDM y Protaper Gold™; por lo que, no hubo diferencia estadísticamente significativa; en cuanto a la limpieza los tres grupos mostraron el mismo comportamiento al limpiar el sistema de conductos radiculares obteniendo entre el 75 y el 100% de los túbulos dentinarios permeables.

Palabras clave: Reducción bacteriana, limpieza, biofilm, sistemas de instrumentación.

1. INTRODUCCIÓN

El principal objetivo del tratamiento endodóntico es la eliminación de tejido pulpar, así como de los microorganismos y sus subproductos con la finalidad de prevenir la aparición o persistencia de periodontitis apical.⁽¹⁾ Para lograr tal objetivo, la preparación quimiomecánica resulta un paso esencial en el tratamiento de conductos radiculares, la cual a través del tiempo ha ido mejorando con el uso de nuevos instrumentos, así como con el empleo de irrigantes que en conjunto pretenden la eliminación total de microorganismos.^(2,3)

La preparación del conducto radicular se realiza mediante la limpieza, conformación y desinfección, los estudios han demostrado que más del 90% de la eliminación de bacterias del conducto radicular se logra mediante la acción mecánica de los instrumentos.⁽⁴⁻⁶⁾

Se han estudiado, evaluado y comparado la capacidad de desinfección y eliminación de carga bacteriana de diferentes sustancias y procedimientos con el uso de sistemas de instrumentación.⁽⁷⁻⁹⁾ que ofrecen algunas ventajas, por ejemplo, un menor tiempo de trabajo, una mayor resistencia y flexibilidad de los instrumentos, así como una menor incidencia de fracturas.

Los nuevos sistemas de instrumentación introducidos al mercado están siendo inclinados a la máxima preservación de la estructura dentaria y la conservación de la anatomía original del sistema de conductos. Sin embargo, la causa principal de enfermedad pulpar es la caries y con ello la presencia de microorganismos por lo que los sistemas de instrumentación además de ofrecer las ventajas que ya se han mencionado deben cumplir con la finalidad principal que es la eliminación de microorganismos, tejido orgánico y material inorgánico lo que cual prevendrá infecciones secundarias o persistentes dando como resultado el éxito del tratamiento endodóntico.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Importancia de la presencia de microorganismos en el conducto radicular

La cavidad oral comprende una microbiota en diferentes hábitats como lo son dientes, surcos gingivales, encía adherida, labios, lengua, mejillas, paladar dura y paladar blando; existen alrededor de 700 a 800 especies orales comunes. ⁽¹⁰⁾ La principal función del esmalte y el cemento dental es formar una barrera que impida la penetración de microorganismos al complejo dentino-pulpar, pero el daño o la pérdida de estas estructuras permite la entrada de microorganismos a la pulpa dental a través de caries, fracturas o fisuras. La pulpa es un tejido ricamente vascularizado e innervado, delimitado por dentina, con una circulación sanguínea terminal y con una zona de acceso circulatorio (periápice) de pequeño calibre; lo que hace que la capacidad defensiva del tejido pulpar sea limitada ante las diversas agresiones que pueda sufrir. El tejido pulpar también puede ser afectado por circulación sanguínea mediante anacoresis, así como por una infección retrógrada, por medio de conductos secundarios, desde el ligamento periodontal o desde el ápice durante un proceso de periodontitis. ⁽¹¹⁾

La primera observación de bacterias en el conducto radicular fue en el siglo XVII, cuando el holandés Anthony Van Leeuwenhoek constructor de microscopios, escribió: "La corona de este diente estaba casi totalmente cariado mientras que su raíz consiste de dos ramas, y en su extremo están anormalmente huecas y sus agujeros estaban rellenos de material blando. Tomé ese material de los agujeros en las raíces y lo mezclé con agua limpia de lluvia, los coloqué ante el lente magnificante para ver si existían criaturas vivas en ella y las descubrí; debo confesar que todo el tiempo esa materia me pareció que estaba viva". Leeuwenhoek llamo "animáculos" a las criaturas observadas, cambiando su nombre posteriormente a "microbios"; marcando el inicio de la microbiología. ⁽¹²⁾

En 1894, Willoughby D. Miller quien fue un odontólogo americano y el primer microbiólogo oral, desarrollo una serie de experimentos en el que reporta la asociación de bacterias con la periodontitis apical, luego del análisis de material obtenido del conducto radicular describió formas básicas de las bacterias: cocos, bacilos y espirilos.⁽¹²⁾

En 1965, en un estudio realizado por Kakehashi y cols., demuestran que cuando las pulpas de ratas estériles, fueron perforadas y expuestas a la cavidad oral las pulpas permanecían vitales y tenían cicatrización del tejido pulpar, mientras que, cuando las ratas convencionales eran expuestas a la flora bacteriana, las pulpas se necrosaban y desarrollaban lesiones periapicales, granulomas y formación de abscesos. Diez años después, en 1975 Goran Sundqvist demostró en un estudio sobre dientes humanos necróticos intactos, que la periodontitis apical solo se presentaba en aquellos conductos que contenían bacterias, mientras que los conductos necróticos estériles no presentaban signos de patosis periapical. ⁽¹²⁾

Desde que se descubrió que los microorganismos son la causa de la periodontitis apical se han explorado qué microorganismos están involucrados en esta infección del sistema de conductos radiculares. Más de 460 taxones bacterianos se han asociado con conductos radiculares infectados. ⁽¹¹⁾

El entorno único del conducto radicular también puede permitir que especies transitorias, que no pueden asentarse en la boca, colonicen con éxito el conducto radicular. Las diferencias en los gradientes de oxígeno y nutrientes en el conducto radicular en comparación con la cavidad bucal promoverán el crecimiento de ciertos microorganismos e inhibirán otros. ⁽¹³⁾

Todas las bacterias de la cavidad oral tienen las mismas oportunidades de invadir el espacio del conducto radicular, sin embargo, actualmente se reporta que se han aislado hasta 30 especies diferentes, mediante el uso de técnicas moleculares y métodos convencionales dentro del sistema de conductos infectado, destacando la presencia de una flora polimicrobiana prevalentemente bacterias anaerobias estrictas. Se han aislado aproximadamente 75% de grampositivas como lo son: Estreptococos (28%), Estafilococos (15%), Corynebacterium (10-25%), Levaduras (12%), y otros. Y

Gram-negativas (24%) incluyendo Espiroquetas (9-12%), Neisseria (4%), Bacteroides (7%), Fusobacterium (3%), Pseudomonas (2%), bacterias Coliformes (1%), y otras especies. Se han identificado más de 400 taxones microbianos diferentes en muestras endodónticas de dientes con diferentes formas de periodontitis apical. Estos taxones se encuentran generalmente en combinaciones que involucran a muchas especies en infecciones primarias y unas pocas en infecciones secundarias/persistentes. ^(14,15)

La composición de la microbiota de los conductos radiculares difiere en el tratamiento de endodoncia primario y secundario. Los bacilos anaerobios gramnegativos son organismos comúnmente aislados en infecciones primarias, mientras que en las infecciones secundarias la microbiota está dominada por cocos grampositivos anaerobios facultativos (*Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp.) y bacilos (*Actinomyces* spp.). *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* son a menudo aislados de infecciones resistentes al tratamiento de endodoncia. ^(14–16)

La razón de que las especies aisladas del conducto radicular es mucho menor a la cantidad total de especies presentes en la cavidad oral es que el conducto radicular provee un ambiente único con factores como el medio anaeróbico, interacciones bacterianas y disponibilidad de nutrientes reducido, haciendo que solo un número mínimo de microorganismos logre sobrevivir dentro de este espacio. Tal es el caso de *Enterococcus faecalis*, una bacteria grampositiva que es aislada frecuentemente de infecciones secundarias y fracaso endodóntico debido a factores como la resistencia a tratamientos y medicamentos intraconducto, la capacidad para invadir túbulos dentinarios, adaptación al estrés presente dentro del conducto, la capacidad para la formación de biofilm y por sus factores de virulencia. ^(16,17)

Por lo tanto, el tratamiento de endodoncia pretende limpiar y desinfectar el sistema de conductos radiculares mediante técnicas de instrumentación biomecánica en conjunto con irrigantes químicos que aseguren la eliminación o reducción al mínimo de contaminantes que predispongan a un fracaso endodóntico.

2.2 Biofilm intraconducto

La capacidad de formar comunidades puede considerarse esencial para la supervivencia microbiana en prácticamente todos los entornos. De hecho, la gran mayoría de los microorganismos en la naturaleza invariablemente crecen y funcionan como miembros de comunidades metabólicamente integradas o biopelículas. El biofilm se puede definir como una comunidad microbiana multicelular sésil caracterizada por células que están unidas firmemente a una superficie e inmersas en una matriz autoproducida de sustancia polimérica extracelular (EPS), generalmente polisacáridos. ^(14,18)

Como comunidad de bacterias, las biopelículas tienen una fisiología colectiva y responden de forma concertada a los desafíos ambientales. Las especies componentes forman poblaciones que no están distribuidas al azar, sino que están organizadas espacial y funcionalmente en toda la comunidad mixta. De hecho, las poblaciones están estratégicamente posicionadas para una interacción metabólica óptima y la arquitectura resultante favorece el papel ecológico de la comunidad. Las propiedades que muestra una comunidad de biopelículas mixtas están dictadas principalmente por las interacciones entre poblaciones, que crean funciones fisiológicas novedosas que no pueden observarse con componentes individuales. El estilo de vida de la comunidad ofrece una serie de ventajas a las bacterias de las biopelículas, que incluyen:

1. La creación de un hábitat más amplio para el crecimiento de una microbiota más diversa
2. Aumento de la diversidad metabólica y la eficiencia debido a las redes tróficas
3. Protección contra microorganismos competidores, defensas del huésped, agentes antimicrobianos y estrés ambiental
4. Intercambios genéticos facilitados
5. Patogenicidad mejorada: es posible que ciertas especies tengan más de un papel en la enfermedad, mientras que diferentes especies pueden realizar funciones similares. Esto ayuda a explicar por qué se pueden encontrar

comunidades con diferente composición bacteriana en diferentes individuos con enfermedades similares. (18,19)

El proceso de formación del Biofilm en el conducto radicular es aún desconocido, sin embargo, la teoría más aceptada consta de cuatro fases y fue descrita por Svensäter y Bergenholtz: (20)

- Primera fase: se forma una película adhesiva sobre la dentina promovida por el depósito de proteínas y otros compuestos derivados de las bacterias en suspensión, del proceso de necrosis y/o inflamación.
- Segunda fase: sobre esa película pegajosa, se fijan algunas bacterias específicas con capacidad de adhesión, de todas las que están en suspensión.
- Tercera fase: la primera capa de bacterias ya adherida, segrega mediadores que, por un lado, van fijando más bacterias, de esa estirpe o de otras y, por otro lado, va formando la matriz extracelular de polisacáridos, primera barrera defensiva característica del Biofilm.
- Cuarta fase: el Biofilm va madurando y creando sistemas de defensa más complejos. Al mismo tiempo arroja bacterias al exterior que cronifica la respuesta inflamatoria del huésped. Siqueira y Rôças exponen que, en esta etapa, el conjunto de biofilm puede consistir en 15% de bacterias y 85% de matriz de polisacáridos, además de contar con más de 300 capas de bacterias superpuestas.

La composición y estructura que conforma el biofilm dificulta su remoción dentro de los conductos radiculares, ya que este puede estar localizado en áreas difíciles de alcanzar como istmos o conductos laterales o accesorios, por lo que la preparación biomecánica rigurosa, así como el empleo de sustancias irrigantes ayuda a la desorganización y eliminación del biofilm.

2.3 Smear Layer

La capa de frotis, lodo dentinario o también conocido como barro dentinario o smear layer fue descrita por primera vez por McComb y Smith (1975)⁽²¹⁾, quienes demostraron la presencia de una capa orgánica que contiene partículas de apatita en la superficie

del esmalte causadas por el calor generado durante el corte. En endodoncia, el término “smear layer” se utilizó para describir las partículas amorfas e irregulares que resultaron de la instrumentación del conducto radicular y cubrieron todas las superficies instrumentadas de los conductos radiculares preparados. El grosor de la capa de smear layer puede variar de un diente a otro según varios factores, entre ellos: si el corte se está realizando de forma húmeda o seca en la dentina, tamaño y forma del conducto radicular, forma y afilado de los instrumentos, y tipo y cantidad de solución de irrigación. La capa de smear layer consta de ambos componentes: orgánicos e inorgánicos. El componente orgánico suele ser una colección de desechos pulpares y bacterianos, mientras que el componente inorgánico está compuesto principalmente por desechos dentinarios. Es una capa amorfa que mide de 0.5 a 2 μm de espesor, cubre la superficie de la dentina y ocluye los orificios de los túbulos dentinarios. (22,23)

El diagnóstico del órgano dental tratado es de suma importancia, ya que, el smear layer que se forma de dientes con pulpitis irreversible, tiene una diferencia importante a la capa de barro dentinario que se integra en el caso de necrosis pulpar; la presencia de bacterias solo está presentes en los necróticos. Esta diferencia puede afectar el pronóstico de la pieza dentaria por lo que la necesidad de eliminarla es determinante debido a razones como: a) puede contener células microbianas y antígenos, b) debilita los efectos desinfectantes en dentina, y c) puede afectar la calidad de unión del material de obturación con la pared del conducto. La capacidad de los irrigantes para eliminar el barro dentinario ha sido ampliamente estudiada, sin embargo, en actualidad, no hay irrigante que sea capaz de disolver a su vez ambos tejidos. (23)

2.4 *Enterococcus faecalis*

Los enterococos son cocos grampositivos que pueden presentarse individualmente, en pares o como cadenas cortas. Son anaerobios facultativos que tienen la capacidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno. Pueden crecer en un ambiente de pH extremadamente alcalino, concentrado de sal en un rango de temperatura de 10 a 45°C y sobrevivir a una temperatura de 60°C durante 30 min. La especie de *Enterococcus* viven en grandes cantidades 10^5 - 10^8 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de heces, en el lumen intestinal del humano, en el tracto genital

femenino y en cavidad oral en menor cantidad. Catalizan fuentes de energía variables incluyendo hidratos de carbono, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina y muchos ácidos. (14,24)

E. faecalis es un coco anaeróbico facultativo grampositivo que está fuertemente asociado con infecciones endodónticas. (24–26). Es un patógeno oportunista que causa infecciones nosocomiales y con frecuencia se aísla de los conductos radiculares con fracaso que se someten a retratamiento. La capacidad para formar biopelículas es ventajosa ya que tiene rasgos de virulencia específicos incluyendo enzimas líticas, citolisina, feromonas y ácido lipoteicoico, lo que le ayuda a adherirse a células del huésped, así como expresar proteínas que le permiten competir con otras células bacterianas. *E. faecalis* es capaz de compartir los rasgos de virulencia, lo que favorece su supervivencia y la capacidad de causar enfermedad. La prevalencia de *E. faecalis* en infecciones endodónticas persistentes y asintomáticas, varía del 24 al 77%, mientras que en infecciones primarias su prevalencia es del 4 al 40%. Los factores que conducen a una infección perirradicular persistente después del tratamiento de endodoncia son la infección intrarradicular, la infección extrarradicular, reacción a cuerpo extraño y los quistes que contienen cristales de colesterol; y principalmente la supervivencia de microorganismos en la porción apical del diente con relleno radicular. *E. faecalis* es capaz de suprimir la acción de los linfocitos, contribuyendo potencialmente al fracaso endodóntico.(5)

E. faecalis mide 1.5 µm lo que significa que tiene la dimensión necesaria para invadir y vivir dentro de los túbulos dentinarios. Puede resistir a la medicación intraconducto de hidróxido de calcio durante más de 10 días formando una biopelícula que lo ayuda a resistir la destrucción al permitir que se vuelva 1000 veces más resistentes a la fagocitosis, anticuerpos y antimicrobianos. Tiene la capacidad de formar biopelículas que pueden resistir el hidróxido de calcio manteniendo la homeostasis del pH, pero a un pH de 11.5 o más no puede sobrevivir. (14,24)

El desarrollo del biofilm de *E. faecalis* en la dentina del conducto radicular comprende las tres etapas siguientes:(14)

- Etapa 1: Las microcolonias se forman a medida que las células de *E. faecalis* se adhieren a la superficie de la dentina del conducto radicular.
- Etapa 2: la disolución mediada por bacterias de la fracción mineral del sustrato de dentina conduce a un aumento localizado de los iones de calcio y fosfato que provocan la mineralización (o calcificación) de la biopelícula de *E. faecalis*.
- Etapa 3: debido a esta interacción de las bacterias y sus productos metabólicos en la dentina, la biopelícula de *E. faecalis* se mineraliza.

Este biofilm en muchas ocasiones no puede ser eliminado en el procedimiento de desinfección durante el tratamiento de endodoncia ya que se pueden localizar en áreas como istmos, ramificaciones, deltas, irregularidades o los mismos túbulos dentinarios.⁽¹⁴⁾ Por lo que, el uso de métodos como la instrumentación mecánica, irrigación con soluciones químicas, medicamentos antimicrobianos colocados de manera intraconducto, se hace con el objetivo de reducir la carga bacteriana y desorganizar o interrumpir la formación de biofilm.

2.5 Uso de irrigantes para la eliminación de smear layer y reducción bacteriana

El propósito de la irrigación es promover la curación disolviendo y eliminando los restos de tejido y los desechos del conducto radicular y eliminando las bacterias. El hipoclorito de sodio (NaOCl) es la sustancia irrigante más importante y ampliamente estudiada, ya que es la única que puede disolver el tejido orgánico. También tiene una fuerte actividad antimicrobiana. Cuanto más tiempo se use NaOCl en un sistema de conductos y cuanto mayor sea la concentración, más eficaz será para limpiar la materia orgánica y eliminar bacterias. Hasta el 50% del área de la pared del conducto radicular permanece intacta con los instrumentos, lo cual tiene varias consecuencias prácticas importantes: 1) estas áreas no tienen una capa de frotis, y 2) las áreas solo se pueden limpiar químicamente o se pueden limpiar con una combinación de compuesto químico y energía física como el ultrasonido. Las áreas intactas no solo carecen de la capa de frotis, es probable que estén cubiertas por predentina, restos de tejido pulpar y posiblemente también biofilm. Además, los desechos de la instrumentación pueden

acumularse en estas áreas. Debido a que la biopelícula, los restos pulpares y la predentina son principalmente materia orgánica, el NaOCl es el irrigante clave en la limpieza de las partes intactas del conducto radicular. El EDTA, la clorhexidina y diferentes productos combinados como MTAD, QMiX, SmearClear, Tetraclean o las soluciones de yodo no tienen efecto de disolución de tejidos sobre la materia orgánica en las partes intactas de la pared del conducto. Alternar el uso de NaOCl y EDTA durante la instrumentación es una práctica común. Sin embargo, el EDTA suprime el efecto de disolución de tejidos del NaOCl y, por lo tanto, no debe utilizarse hasta el final del tratamiento como enjuague final. ⁽²³⁾

El protocolo recomendado para la eliminación de la capa de frotis es NaOCl seguido de EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). A pesar de que se ha mencionado que el EDTA eliminan la capa de frotis, no pueden hacerlo por completo sin el uso previo de NaOCl. El agua, la solución salina, la clorhexidina (CHX) o los compuestos de yodo no tienen ningún efecto de disolución en la capa de frotis. ^(23,27)

El método más común de administración de irrigante es mediante una jeringa y una aguja colocadas profundamente en el conducto. En la mayoría de los casos, la aguja sigue el camino creado por los instrumentos. Por lo tanto, la eliminación de la capa de frotis generalmente se puede realizar con éxito ya que los irrigantes se liberan en las mismas áreas donde se formó esta capa, y con ello una consecuente reducción de carga bacteriana.

Las propiedades ideales que debe tener un irrigante ideal o una combinación de ellos debe ser bactericida y/o bacteriostático, no debe lesionar los tejidos periapicales, por lo tanto, deben ser poco citotóxicos, solventes de tejidos o de residuos orgánicos e inorgánicos, baja tensión superficial, lubricante, de fácil aplicación, acción rápida y sostenida. ⁽²⁸⁾

2.6 Importancia de la preparación mecánica del conducto radicular

Los objetivos mecánicos de la instrumentación se centran principalmente en eliminar todo el tejido pulpar, las bacterias y sus derivados, así como la preparación adecuada

del conducto para ser obturado tridimensionalmente. La preparación del conducto radicular se realiza mediante la limpieza, el modelado y la desinfección a través de sustancias químicas que en conjunto con la acción mecánica de los instrumentos logrará de la eliminación de bacterias del sistema de conductos radiculares. ⁽²⁹⁾

El sistema de conductos radiculares puede ser limpiado con instrumentación junto con irrigantes y medicamentos intraconducto. Para facilitar la preparación del conducto, se han introducido varios dispositivos mecánicos y técnicas para mejorar aún más la eficacia de la instrumentación. ^(4,29)

2.6.1 Antecedentes de la instrumentación mecanizada

En 1992 el Dr. John McSpadden fue quien diseñó el primer instrumento rotatorio de conicidad 0.02, dando inicio a la primera generación de sistemas de instrumentación. Dos años más tarde en 1994, el Dr. McSpadden introduce una línea de limas que fue conocida como la serie Profile con conicidad 0.04, después la 0.06 y hoy conocidos como “abridores”. ⁽³⁰⁾

Los sistemas rotatorios de la primera generación tenían ángulos neutros o ligeramente negativos, además de que se requerían un gran número de instrumentos para lograr el objetivo de la instrumentación. A finales de los años 90's inició la segunda generación de instrumentos en donde estos cambiaron de forma, diseñados con ángulos de inclinación positiva, esto con el objetivo de mejorar la eficiencia de corte y disminuyendo el efecto de atornillamiento, los sistemas también requerían de menos instrumentos para preparar completamente el conducto radicular, sin embargo, existían problemas asociados a la separación de instrumentos. ⁽³⁰⁾

Los primeros instrumentos que cumplían con los criterios de estandarización eran limas fabricadas en acero de carbono, una aleación que presentaba una dureza muy superior a la dentina, dando como resultado un instrumento con una gran capacidad de corte, resistencia a la fractura y al desgaste por uso. Sin embargo, estos instrumentos presentaban corrosión y oxidación como consecuencia de la acción conjunta con sustancias químicas, principalmente el hipoclorito de sodio. Esto afectaba

negativamente la propiedad de resistencia de la lima, ya que la corrosión del metal tornaba muy frágil al instrumento. ^(30,31)

Durante la década de 1960, los estudios conducidos por Buehler et al (1963) y Wang et al. (1965) en el laboratorio de artillería Naval de Maryland, en Estados Unidos, llevaron al descubrimiento del denominado nitinol55 (NITI de Níquel titanio y NOL de “Naval Ordnance Laboratory”) una aleación no magnética y no corrosiva compuesta por níquel y titanio con la característica de súper elasticidad y del efecto de memoria de forma. Posteriormente este descubrimiento sería introducido en odontología por Civjan et. al. en 1975. Con el uso de nitinol55 en ortodoncia, en 1988, Walia et al. propone la fabricación de limas endodónticas manuales a partir del alambre ortodóntico de nitinol55, obteniendo como resultado limas flexibles que hicieron posible la instrumentación de conductos curvos con menores deformaciones anatómicas. ^(30,31)

Los instrumentos rotatorios para el conducto radicular fabricados con una aleación de níquel-titanio (NiTi) han demostrado ser un valioso complemento para la terapia del conducto radicular. Los instrumentos de NiTi son muy flexibles y elásticos, lo que ha disminuido de manera importante las complicaciones iatrogénicas que se pueden presentarse durante la preparación biomecánica del sistema de conductos. ⁽³⁰⁾ Sin embargo, la evolución impuesta por la necesidad de perfeccionamiento de la seguridad y la previsibilidad de resultados llevó a la búsqueda de mejorar los instrumentos endodónticos. En 2007 se desarrollaron nuevas tecnologías para el procesamiento termomecánico y la fabricación para optimizar la microestructura de la aleación NiTi, a través de una serie de aplicaciones térmicas a los espacios en blanco del alambre y fue así que dio lugar al proceso de manufacturación M- Wire desarrollada por medio de un proceso térmico, patentado y dando lugar a la tercera generación en los sistemas de instrumentación; es decir al ajuste de temperaturas de transición de la aleación de NiTi, efectuando la resistencia a la fatiga de los sistemas endodónticos, produciendo un alambre NiTi súper elástico. ⁽³¹⁾

Actualmente la instrumentación mecánica del sistema de conductos radiculares se realiza habitualmente con limas rotativas de níquel-titanio (NiTi) ya que reducen el tiempo de trabajo, con preparación conservadora y produciendo menos extrusión de

residuos que las limas manuales. La preparación quimiomecánica con irrigantes antimicrobianos y limas NiTi rotativas puede proporcionar una reducción de la carga de endotoxinas de más del 90% en los conductos radiculares infectados. Sin embargo, la complejidad anatómica puede albergar microorganismos que permanecen intactos en dichas áreas. ^(32,33)

2.7 Descripción de los sistemas de instrumentación

2.7.1 ZenFlex™

Sistema de limas NiTi introducido en 2021, es un sistema para instrumentación rotatoria ZenFlex™ (Kerr Dental), es un sistema de 6 limas (Figura 1), que según el fabricante tiene la eficiencia de corte, junto con el equilibrio adecuado de fuerza y flexibilidad que necesita para adaptarse a una amplia gama de curvaturas, incluso en las anatomías de conducto más complejas. ⁽³⁴⁾

Tiene alta eficiencia de corte, está diseñado con una sección transversal triangular con tratamiento térmico patentado. El desgaste generado por este sistema es mínimamente invasivo; el diámetro de la ranura de 1 mm y la punta inactiva ayudan a minimizar la transportación y preservan la integridad estructural del diente. Cuenta con una resistencia excepcional ya que resiste mejor la fatiga cíclica y tiene una fuerza de torsión comparable a otras limas líderes en el mercado, lo que resulta en una mínima rotura y deformación.

El sistema ZenFlex™ (Kerr Dental) ofrece una excelente flexibilidad de memoria controlada y flexibilidad para curvas de hasta 90° que se adaptan incluso a las anatomías del conducto más complejas.

El sistema de limas del sistema ZenFlex™ está disponible en tres diámetros: 21, 25 y 31mm y en conicidad 0.04 y conicidad 0.06 (Figura 1 y 2). Este sistema se utiliza para dar forma y limpiar el conducto radicular durante el tratamiento de endodoncia. Las limas se ofrecen en paquetes surtidos de puntas de #20, 25, 30, 35, 40 y 45. Las limas adicionales están disponibles en tamaño 50 y 55. Las limas ZenFlex™ se pueden utilizar en movimiento rotatorio y adaptativo. ⁽³⁵⁾ Lo que permite una preparación del

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

conductor de forma segura y predecible, permitiendo una conformación suficiente para la obturación del sistema de conductos radiculares. (34)

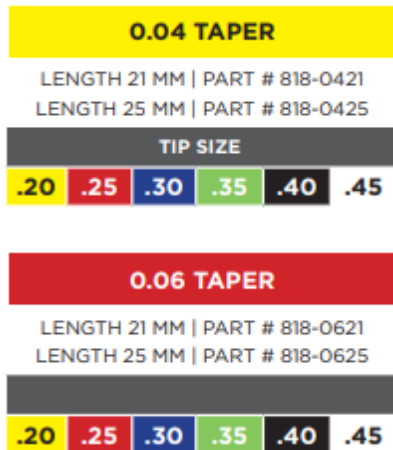


Figura 1. Secuencia de limas Zenflex, conicidad y longitudes disponibles.

Figura 2. Secuencia de limas Zenflex, conicidad y longitudes disponibles.



Secuencia

Para utilizar el sistema rotatorio ZenFlex™ en primer lugar es necesario ubicar las entradas de los conductos utilizando un acceso en línea recta y obteniendo la permeabilidad de los conductos con el uso de limas manuales. Establecer la longitud del trabajo con limas manuales y con el uso de un localizador de ápice y radiografía según sea necesario. Es importante permear el conducto hasta al menos una lima manual K#15. El fabricante recomienda el uso abundante de irrigante, por ejemplo, NaOCl (hipoclorito de sodio) o EDTA al 17% en entre cada lima. (36)

La técnica de modelado se lleva a cabo utilizando los ajustes de la pieza de mano de baja velocidad de acuerdo con la tabla 1. Con la lima rotatoria #20 girando se avanza lentamente con un solo movimiento controlado a medida que ingresa al conducto hasta que la lima encuentre resistencia luego se retira completamente la lima del conducto sin ejercer fuerza apical y sin hacer movimientos de picoteo. Se debe limpiar la lima para evitar la acumulación de virutas de dentina, así como irrigar abundante con el uso

de hipoclorito de sodio. Posteriormente confirmar la permeabilidad del conducto con una lima K#10. Volver a introducir la lima rotatoria al conducto hasta que no pueda avanzar pasivamente o se alcance la longitud de trabajo. Repetir con la siguiente lima rotatoria en la secuencia elegida hasta lograr la longitud de trabajo final y la forma deseada. Llevar cada instrumento a la resistencia durante no más de 5-7 segundos.^(34,36)

Cuando el instrumento ya no avance apicalmente, el fabricante recomienda regresar a una lima más pequeña. En conductos con curvatura apical severa o pronunciada, se debe tener precaución adicional.

Tabla 1. Velocidad y torque recomendados para cada conicidad y lima utilizada para el sistema Zenflex según el fabricante.

Lima	Velocidad	Torque (g-cm)	Torque (N-cm)
Zenflex .04, 20 y 25	500	100	1.00
Zenflex .04, 30, 35, 40, 45, 50 y 55	500	300	2.94
Zenflex .06, 20 y 25	500	200	1.96
Zenflex .06, 30, 35, 40, 45, 50 y 55	500	350	3.43

2.7.2 Hyflex™ EDM

El sistema de instrumentos rotatorios NiTi con memoria controlada (Hyflex™ CM, Coltene) se mecanizó a partir de un alambre denominado alambre CM (control memorial), el cual es previamente sometido a un procedimiento de procesamiento termomecánico novedoso y patentado. Se ha demostrado que estos instrumentos tienen una excelente resistencia a la fatiga clínica ya que, el efecto de memoria

controlada ayuda a que la lima conserve la forma del conducto incluso cuando está fuera de él. (Figura 3). Esta propiedad es responsable de evitar errores de procedimiento tales como formación de escalones, transportaciones o perforaciones. La extrema flexibilidad y la menor conicidad de estas limas ofrece ventaja en conductos curvos. Posteriormente, en 2015 se produjo otra transformación importante en la tecnología de las limas, que fue la introducción de limas EDM. EDM significa mecanizado por descarga eléctrica. Este es un proceso único de elaboración de limas, lo que crea la superficie única confiriéndole mayor resistencia y flexibilidad. (37–40)

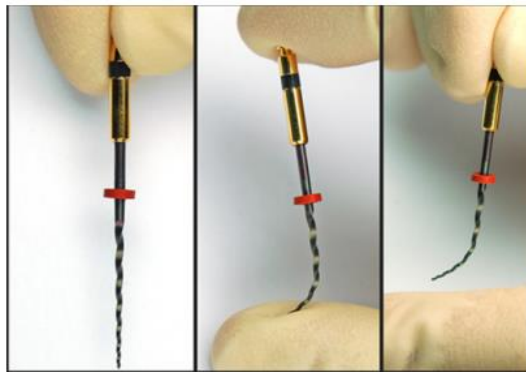


Figura 4. Efecto de memoria controlada ayuda a que la lima conserve la forma del conducto incluso cuando está fuera de él.

Los espirales de las limas Hyflex™ EDM se estiran cuando se fuerzan, de este modo se evita que se trabe la lima en el conducto y se reduce en gran medida el peligro de fractura. A diferencia de los instrumentos de NiTi convencionales disponibles, las limas tienen la capacidad de recuperar su forma dependiendo del tipo de deformación. Las limas vuelven a su forma original durante la esterilización en autoclave si sólo se han deformado elásticamente. Es necesario garantizar que las espirales de las limas no giren en el sentido contrario durante el uso, ya que de lo contrario sufrirán una deformación plástica y no recuperarán la forma. Se deberán descartar las limas si después de su esterilización en autoclave las espirales permanecen estiradas o parecen haber perdido su funcionalidad. El número de veces que se puede utilizar los instrumentos depende de la preparación y el tratamiento las limas siempre deben ser inspeccionadas antes y después de su uso. (37,39,40)

Todas las limas NiTi Hyflex se pueden utilizar a 400 rpm con un torque de hasta 2.5 Ncm, a excepción de la lima de Glidepath que se pueden utilizar a 300 rpm con un torque de 1.8 Ncm. El fabricante recomienda la irrigación del conducto antes de comenzar la instrumentación, así como la irrigación de forma regular entre lima y lima para mantener lubricado el conducto. Se deben limpiar las espirales de la lima después de cada inserción en el conducto radicular. ⁽³⁸⁾

Secuencia

Luego de obtener el acceso coronal en línea recta resulta útil utilizar una lima manual #20 como máximo o una lima de acceso apical rotatoria para crear una trayectoria de acceso apical. Dependiendo de la situación clínica y del criterio del clínico puede ser necesario el uso de la lima 25/.12 (Orifice Opener). Cuando la lima no gire libremente se hace retroceder 1 mm hasta que se libere de las paredes. ⁽³⁹⁾

A continuación, se utiliza la lima de acceso 10/.05 para crear una trayectoria de acceso hasta la longitud de trabajo. Cuando la lima no pueda avanzar más, se debe hacer retroceder 1 mm hasta que se libera de las paredes. El motor debe ser accionado y seguir avanzando lentamente con pequeños toques y sin aplicar presión. Esta lima es extremadamente fina y por tanto no resulta tan resistente a la fractura como las demás limas Hyflex™ EDM, por tal motivo, la lima debe de utilizarse con extremo cuidado y con menor frecuencia que las demás limas Hyflex™ EDM. En caso de encontrar resistencia se utiliza una lima manual 20/.02 para comprobar si hay una obstrucción, irrigar continuamente el conducto y mantenerlo lubricado. ⁽³⁹⁾

Posteriormente utilizar la lima Hyflex™ EDM 25/ (One file) para ensanchar el conducto radicular hasta la longitud de trabajo. Avanzar lentamente en el conducto y en caso de encontrar resistencia, repetir lo mencionado anteriormente.

Según la situación clínica, el uso de las limas Hyflex™ EDM se reduce a 2-3 limas, especialmente en los conductos rectos y más grandes. (Figura 4) Dependiendo de la situación clínica y del criterio del operador puede ser necesario el uso de la lima de acabado 40/.04, 50/.03 o la lima 60/.02 para aumentar la preparación apical. El

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

procedimiento a llevar a cabo es el mismo realizado con las limas descritas anteriormente. (38,39)

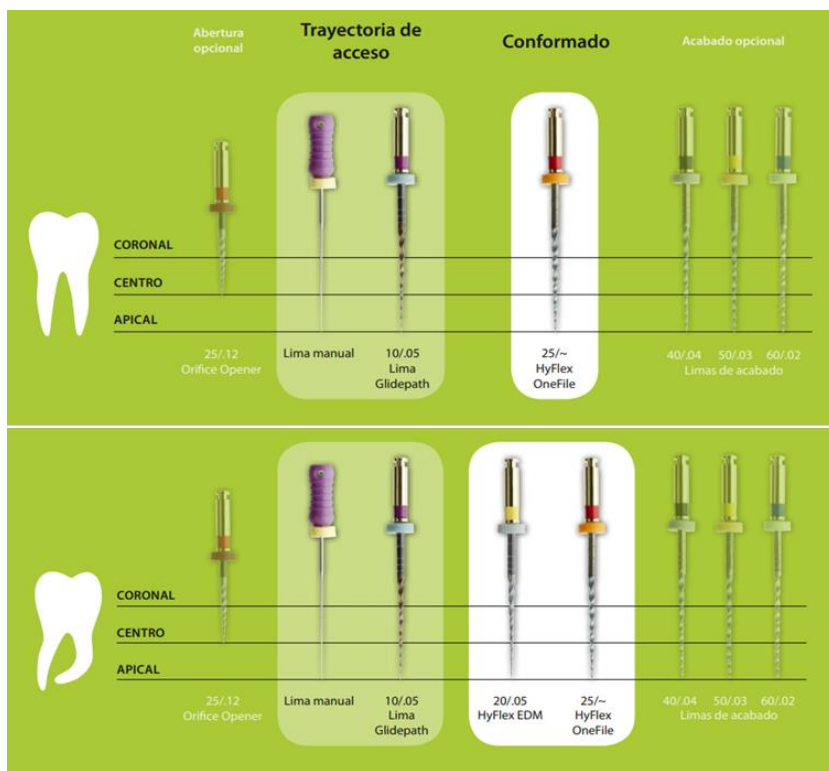


Figura 5. Secuencias sugeridas para el uso del sistema Hyflex EDM, dependiendo la curvatura del conducto que se esté tratando.

2.7.3 Protaper Gold™

En los últimos años investigaciones científicas han demostrado que los instrumentos rotatorios Protaper, utilizados con la técnica Crown Down facilitan la limpieza e instrumentación centrada en el conducto radicular. La conicidad de las limas hace al sistema ideal para realizar la conformación de conductos difíciles como conductos curvos y calcificados, proporcionando ventajas sobre la instrumentación y facilitando la permeabilidad de los conductos curvos y rectos. Reduciendo la fricción entre los instrumentos y las paredes de los conductos radiculares dando como resultado un mínimo de separación durante su uso.

Actualmente la casa Dentsply trabaja con la aleación níquel- titanio más un tratamiento térmico, llamado Gold, adquiriendo un alto impacto positivo en el área de metalurgia, ya que ofrece mayor flexibilidad y una mayor resistencia a la fatiga cíclica y torsional, siendo lo suficientemente rígida para optimizar la eficacia de corte y mejorando la facilidad de que el instrumento llegue a longitud de trabajo proporcionando seguridad al operador con el uso de estos instrumentos. (31)

El sistema Protaper Gold™ (PTG, Dentsply Sirona, Baillagues, Suiza) fue puesto en el mercado en 2015; posee una sección transversal triangular convexa (figura 5) con conicidad progresiva variable, PTG es fabricado por una tecnología patentada de metalúrgica avanzada a través del tratamiento térmico (Gold-wire), que según el fabricante aporta mayor flexibilidad y resistencia a la fatiga cíclica. (41)

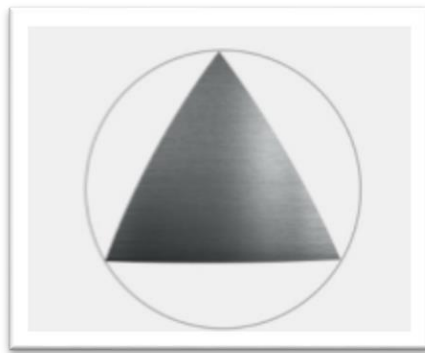


Figura 6. Sección transversal de Protaper Gold: triangular convexa

Las limas rotatorias de Protaper Gold™ han sido concebidas como la evolución de las Protaper Universal™, pueden ser empleadas con la misma técnica y secuencia clínica, pero con propiedades mejoradas, como una mayor flexibilidad que sus predecesoras y un vástago más corto de solo 11 mm (2 mm menos) que permite un acceso intraoral más práctico.

Las limas Protaper Gold™ pertenecen a la casa comercial Dentsply de Sirona, como ya ha sido mencionado este sistema proporcionan más del doble de resistencia a la fatiga clínica. Su diseño incluye una punta no cortante que permite que cada instrumento siga de forma segura la porción de conducto ya instrumentada. La sección triangular convexa y su conicidad variable ayudan a mejorar el corte y disminuir la

fricción rotacional entre la hoja de la lima y la dentina, son fabricadas en Níquel-Titanio y están indicadas para tratamientos difíciles, conductos calcificados y pronunciadamente curvos. Protaper Gold™ incluye importantes mejoras: 24% de incremento en flexibilidad, 2.6 veces mayor resistencia a la fatiga cíclica y un mango más corto (11 mm) para mejorar la accesibilidad. ^(42,43)

Secuencia

La serie de limas Protaper Gold™ está formada por **tres limas de conformación** y corte, que tienen la finalidad de pre ensanchar los conductos:

- **SX** (0.19/.04): Aumentar la conicidad de la parte coronal del conducto
- **S1** (0.18/.02)
- **S2** (0.20/.02)

Cinco limas de finalización y acabado, son más flexibles por lo que cada conducto se puede conformar y acabar con un enfoque de sistema completo:

- **F1** Amarilla ((0.20/.07)
- **F2** Roja (0.25/.08)
- **F3** Azul (0.30/.09)
- **F4** Negro (0.40/.06)
- **F5** Amarillo (0.50/.05)

Las limas solo deben usarse una vez que la trayectoria de acceso está confirmada y reproducible, lo cual se realiza con el uso de limas manuales hasta una lima K#15.

Para comenzar la conformación del conducto, se usan las limas de modelado (S1, S2 y SX) con una acción de cepillado para crear un acceso radicular en línea recta. Posteriormente pasar a las limas de acabado (F1, F2, F3, F4 y F5) sin acción de cepillado, estos instrumentos deben seguir pasivamente el conducto hasta la longitud de trabajo y luego retirarlos inmediatamente.

Este sistema se fabrica con un proceso que da como resultado una apariencia de color oro, debido a este procesamiento patentado, las limas pueden aparecer ligeramente

curvas, pero no es un defecto de fabricación, no es necesario enderezar la lima antes de usarla pues una vez dentro del conducto seguirá la anatomía. Al introducir la lima al conducto la presión que se ejerza apicalmente debe ser mínima para evitar accidentes como la separación del instrumento.

Las limas rotatorias se pueden utilizar a velocidades de motor entre 250 rpm y 350 rpm. (Tabla 2)

Tabla 2. Velocidad y torque sugeridos por el fabricante para el ajuste del motor al usar Protaper Gold

Lima	Velocidad (rpm)	Torque (N*cm)
Protaper Gold SX y S1	300	5.10
Protaper Gold S2 y F1	300	1.50
Protaper Gold F2, F3, F4 y F5	300	3.10

- Acceso en línea recta a la entrada de los conductos
- Explorar pasivamente los 2/3 coronales del conducto con limas manuales K#10 y K#15
- Se puede alternar con el uso de ProGlider™ o PathFile™ para obtener la permeabilidad y el acceso en línea recta
- El conducto debe estar lubricado con alguna sustancia irrigadora como el NaOCl
- Introducir S1 en el conducto siguiendo la trayectoria del conducto. Continuar dando forma hasta alcanzar la longitud de la lima K#15
- Continuar con S2, exactamente como se describe para S1
- Establecer la longitud de trabajo, confirmar la permeabilidad y verificar la presencia de una trayectoria de deslizamiento suave y reproducible en el 1/3 apical

- Utilizar S1, con acción de cepillado, hasta alcanzar la longitud de trabajo luego realizar lo mismo con S2, reconfirmar la longitud de trabajo, siempre irrigar de forma abundante entre lima y lima.
- Posteriormente utilizar la lima de acabado F1, en una acción "sin cepillar", con cada inserción más profunda que la inserción anterior hasta alcanzar la longitud de trabajo. No deje la lima en la longitud de trabajo por más de un segundo
- Verificar la forma con una lima manual K#20. Si el instrumento está ajustado a lo largo, el conducto significa que tiene forma y está listo para ser obturado. Si la lima 20 queda holgada, se debe proceder a F2 y, cuando sea necesario, a F3, F4 y F5, con el mismo movimiento sin cepillar hasta la longitud de trabajo, calibrando después de cada lima de acabado con limas manuales 25, 30, 40 o 50 respectivamente
- La secuencia es la misma independientemente de la longitud, el diámetro o la curvatura del conducto

3. JUSTIFICACIÓN

El principal objetivo de la terapia endodóntica es la eliminación de microorganismos del sistema de conductos radiculares y con ello evitar periodontitis apical, para lo cual el desbridamiento mecánico es uno de los pasos más importantes para garantizar el éxito del tratamiento.

Los microorganismos están presentes en todo el sistema de conductos, incluso en zonas difíciles de alcanzar; *Enterococcus faecalis* es el microorganismo más frecuentemente encontrado en infecciones endodónticas secundarias, debido a su capacidad de sobrevivir en entornos con escasos nutrientes disponibles.

Los nuevos sistemas de instrumentación están siendo orientados a la máxima conservación de la estructura dentinal y al respeto de la anatomía original del sistema de conductos.

Recientemente se introdujo al mercado un nuevo sistema de instrumentación rotatoria; ZenFlex™ el cual no ha sido evaluado respecto a sí la conformación lograda con este sistema es suficiente para mejorar la limpieza del conducto radicular y con ello lograr una mayor desinfección, al reducir o eliminar las bacterias presentes en el interior del conducto radicular, por lo que se hace necesario evaluar el trabajo que realizan estos instrumentos al interior del sistema de conductos y establecer si presentan ventajas ante los ya existentes en el mercado.

3.1 Pregunta de investigación:

¿El sistema de instrumentación ZenFlex™ es más eficiente en la limpieza y la reducción bacteriana en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™?

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

Evaluar la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto utilizando el sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™ en un estudio *in vitro*.

4.2 Objetivos específicos:

1. Formación de biofilm maduro de 30 días de *E. faecalis* de forma estática en raíces de premolares mandibulares
2. Cuantificar la carga bacteriana pre-instrumentación mediante unidades formadoras de colonias (UFC)
3. Cuantificar la carga bacteriana post-instrumentación con el uso del sistema de instrumentación ZenFlex™, Hyflex™ EDM y Protaper Gold™ mediante unidades formadoras de colonias (UFC)
4. Evaluar la limpieza del tercio apical por medio del microscopio electrónico de barrido (MEB)

5. HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación: La preparación biomecánica con el sistema ZenFlex™ disminuye con mayor eficiencia la carga bacteriana del conducto radicular en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™.

Hipótesis alterna (1): La preparación biomecánica con el sistema ZenFlex™ disminuye con menor eficiencia la carga bacteriana del conducto radicular en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™.

Hipótesis alterna (2): La preparación biomecánica con el sistema ZenFlex™ disminuye con la misma eficiencia la carga bacteriana del conducto radicular en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™.

Hipótesis de investigación: La preparación biomecánica con el sistema ZenFlex™ logra mejor limpieza del tercio apical comparado con el sistema Hyflex™ EDM y Protaper Gold™.

Hipótesis alterna (1): La preparación biomecánica con el sistema ZenFlex™ logra una menor limpieza del tercio apical comparado con el sistema Hyflex™ EDM y Protaper Gold™.

Hipótesis alterna (2): La preparación biomecánica con el sistema ZenFlex™ logra la misma limpieza del tercio apical comparado con el sistema Hyflex™ EDM y Protaper Gold™.

6. METODOLOGÍA

6.1 Lugar de realización

- Laboratorio de preclínica de la Maestría en Endodoncia, Facultad de Estomatología, UASLP
- Laboratorio Multidisciplinario de la Maestría en Endodoncia, Facultad de Estomatología, UASLP

6.2 Diseño de estudio

- Experimental *in vitro*
- Tipo de investigación: prospectivo, longitudinal

6.3 Criterios de selección

6.3.1 Criterios de inclusión

- Raíces de premolares mandibulares con conductos rectos y redondos
- Raíces rectas
- Raíces que no presenten reabsorción interna, externa o apical
- Raíces con desarrollo radicular completo

6.3.2 Criterios de exclusión

- Raíces con caries
- Conductos múltiples
- Raíces que presenten reabsorción interna, externa o apical
- Raíces con desarrollo radicular incompleto
- Raíces con algún tipo de tratamiento endodóntico
- Conductos calcificados

6.3.3 Criterios de eliminación

- Raíces fracturadas
- Raíces donde algún instrumento se haya separado durante el protocolo
- Raíces contaminadas después de la inoculación indicada

Grupos de estudio

Grupo 1: Sistema rotatorio Hyflex™ EDM (Coltene) movimiento rotatorio continuo

Grupo 2: Sistema ZenFlex™ (Kerr Dental) movimiento rotatorio continuo

Grupo 3: Sistema Protaper Gold™ (Dentsply-Sirona) movimiento rotatorio continuo

Grupo control positivo: Se indujo la formación de biofilm de *Enterococcus faecalis* y no se realizó preparación biomecánica con algún sistema.

Grupo control negativo: Raíces de premolares estériles.

6.4 Definición conceptual y operacional de las variables

6.4.1 Variables independientes

- **Preparación biomecánica**

Definición conceptual: Consiste en tender un acceso hacia el conducto radicular en toda su longitud a través de la cual se puede remover tejido orgánico, necrótico y debris mediante la conformación con una conicidad que va a permitir colocar sustancias irrigantes desinfectantes y medicamentos dentro de él, con el fin de obtener una limpieza y desinfección que permita una posterior obturación de manera hermética y tridimensional adecuada del sistema de conductos radiculares.

Definición operacional: Se lleva a cabo con limas manuales, rotatorias o recíprocamente en conjunto con soluciones irrigantes desinfectantes.

Escala de medición: Categórica nominal

6.4.2 Variables dependientes

- **Reducción bacteriana**

Definición conceptual: Reducir o erradicar las bacterias en su totalidad en cierta zona o lugar.

Definición operacional: Se mide mediante la toma de muestra con puntas de papel de un conducto pre- instrumentación y post- instrumentación de las diferentes muestras realizando diluciones seriadas de McFarland de la suspensión resultante (10^{-4} y 10^{-5}) y alícuotas de 0.1 ml se siembran en agares y se incuban durante 24 horas a 37°C.

Después se cuentan las colonias y se calcula el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (CFU mL⁻¹).

Escala de medición: Continua de razón

- **Remoción del lodo dentinario**

Definición conceptual: Se define como la eliminación o disminución de restos de dentina y tejido orgánico que se generan al accionar los instrumentos contra la pared del conducto durante la instrumentación manual, rotatoria o reciprocante.

Definición operacional: Se lleva a cabo mediante el uso de sustancias químicas (irrigantes) que son utilizados intercaladamente después del uso de cada instrumento introducido al conducto radicular.

Evaluación de la presencia o ausencia del lodo dentinario en el tercio apical según la escala de medición modificada con base a la propuesta del investigador Rome y cols.⁽⁴⁴⁾ (Tabla 3)

Tabla 3. Evaluación de presencia o ausencia de lodo dentinario en tercio apical de acuerdo a la escala de medición de acuerdo a Rome y cols.

0	0% de túbulos abiertos
1	25% de túbulos abiertos
2	50% de túbulos abiertos
3	75% de túbulos abiertos
4	100% de túbulos abiertos

Escala de medición: Continua de razón

6.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico la prueba de normalidad utilizada fue Shapiro-Wilk, para la comparación entre grupos la prueba ANOVA de una vía ya que los datos obtenidos siguen una distribución normal.

Adicionalmente pruebas de Tukey y Bonferroni para conocer la diferencia entre los pares de grupos estudiados.

Prueba T-student para comparación interna de los grupos experimentales en las muestras pre y post-instrumentación.

Los ensayos se realizaron por triplicado y los resultados fueron llevados al programa SPSS versión 23 para su análisis estadístico.

6.6 Consideraciones éticas

La realización de este proyecto fue aprobada por el H. Comité de Ética en Investigación de la Facultad de la Facultad de Estomatología de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (CONBIOÉTICA-24-CEI-001-20190213) el cual fue asignado con la clave: CEI-FE-043-021.

Las piezas dentales que fueron utilizadas para la realización de este proyecto fueron donadas por consultorios privados y clínicas dentales, por lo que los datos de los pacientes son de origen desconocido.

Los Residuos Peligrosos Biológicos Infecciosos (RPBI) que se generaron durante el proceso del proyecto fueron manejados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana, NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

6.7 Fase experimental

La metodología se llevó a cabo en cuatro etapas que se describen a continuación:

1. Etapa de recolección y preparación de muestras
2. Etapa microbiológica
3. Etapa de instrumentación
4. Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y observación al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)

6.7.1 Recolección y preparación de muestras

Obtención de piezas dentales extraídas por razones protésicas, ortodónticas y periodontales con la finalidad de desarrollar un biofilm de *E. faecalis*

6.7.1.1 Determinación del número de muestras (N)

El número de las muestras se estableció a partir de la siguiente fórmula:

$$N = \frac{Z^2 * p * q}{e^2}$$

Z= nivel de confianza (correspondiente con la tabla de valores Z)

p= porcentaje de la población que tiene el atributo deseado

q= porcentaje de la población que no tiene el atributo deseado = 1-p

Nota: cuando no hay indicación de la población que se posee o no el atributo, se asume 50% para p y 50% para q

e= error de estimación máximo aceptado

N= tamaño de la muestra

Valores de confianza tabla Z

95%	1.96
90%	1.65
91%	1.7
92%	1.76
93%	1.81
94%	1.89

INGRESO DE DATOS

Z=	1.96
p=	99%
q=	1%
e=	5%

TAMAÑO DE LA MUESTRA

n= 15.21

6.7.1.2 Selección y preparación de las muestras

Se seleccionaron 55 raíces de 1os o 2dos premolares mandibulares que cumplieran con los criterios de inclusión. Posteriormente se realizó limpieza de las piezas dentales con hipoclorito de sodio al 2.25% y eliminación del tejido adherido con la ayuda de hoja de bisturí. Se tomaron radiografías digitales de los dientes en sentido mesio-distal y buco-lingual para determinar diámetros y morfología con el uso de radiovisiografo. (Imágen 1)

Finalmente se realizó la aleatorización de las piezas dentales en 3 grupos experimentales (45 dientes) y 2 grupos control (10 dientes). (Tabla 4)

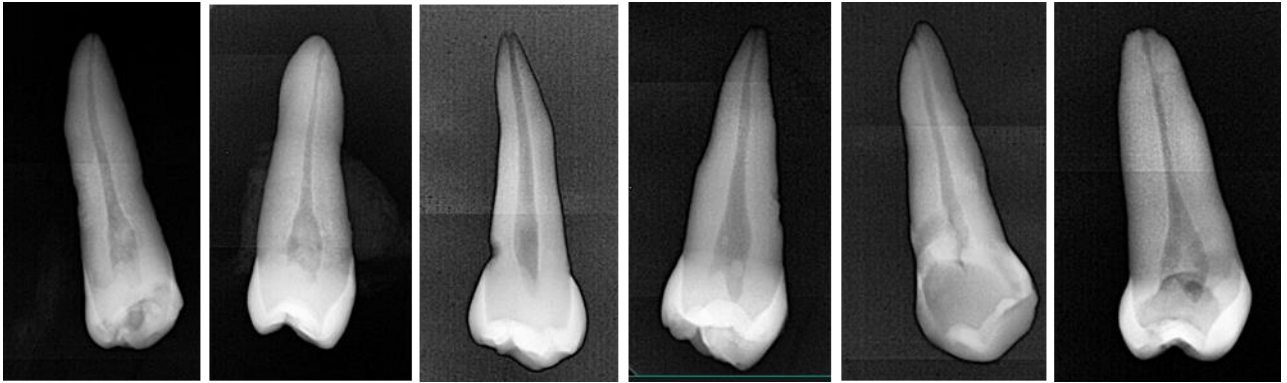
Tabla 4. Distribución de números de muestra en grupos de experimentación y grupos control, así como el cultivo a inducir.

Sistema de instrumentación	Tipo de cultivo
Grupo 1: Hyflex™ EDM (15)	Biofilm de <i>E faecalis</i>
Grupo 2: Zenflex™ (15)	Biofilm de <i>E faecalis</i>
Grupo 3: Protaper Gold™ (15)	Biofilm de <i>E faecalis</i>
Grupo control positivo (grupo sin instrumentación) (5)	Biofilm de <i>E faecalis</i>
Grupo control negativo (piezas estériles) (5)	Sin inocular

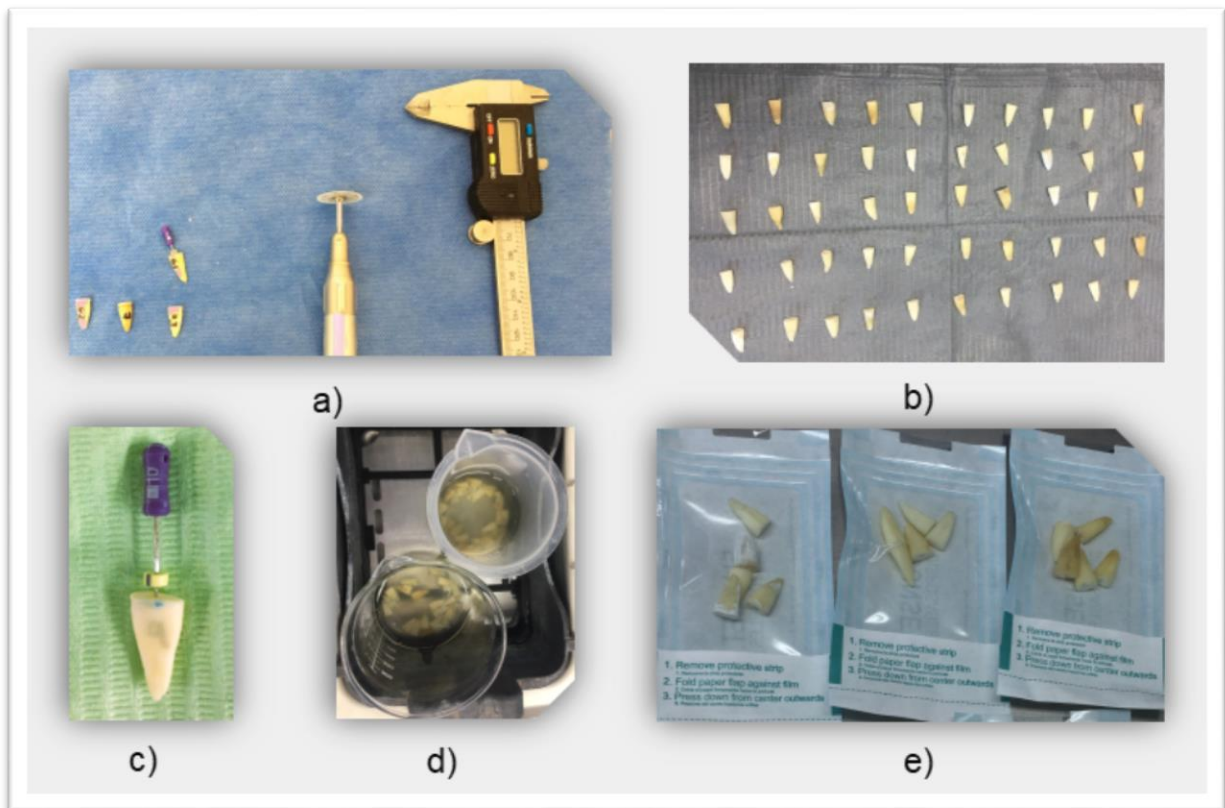
6.7.1.3 Preparación de piezas dentales

Se llevó a cabo la estandarización de las muestras a 14 mm. Se patentizaron los conductos con una lima K #10 (Dentsply Sirona), se estableció la longitud de trabajo a 13.5 mm, se irrigaron con NaOCl al 2.25%; las muestras fueron llevadas al ultrasonido para realizar el protocolo de limpieza con el objetivo de eliminar tejido orgánico e inorgánico según el protocolo de Haapasalo y cols. (1987).⁽⁴⁵⁾: Agitación ultrasónica empleando NaOCl al 2.25% por 4 minutos. Agitación ultrasónica con agua destilada por 4 minutos. Agitación ultrasónica con EDTA al 17% por 4 minutos. Agitación ultrasónica con agua destilada por 4 minutos. Se realizó el secado en papel filtro y en secciones de 5 piezas fueron colocadas en bolsas para ser esterilizadas a 121°C, 15 psi, 15 minutos. (Imágen 2)

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*



Imágen 1. Radiografías digitales tomadas en sentido mesio-distal y vestibulo-lingual para confirmar presencia de un conducto recto.



Imágen 2. Proceso de preparación de muestras. a) y b) Estandarización de muestras con disco de diamante a 14 mm. c) permeabilización de conductos con lima K #10. d) Protocolo de limpieza en ultrasonido según el protocolo de Haapasalo y cols. e) Colocación de muestras en grupos de 5 piezas para ser llevados a esterilización por 15 min a 121°C.

6.7.2 Fase microbiológica

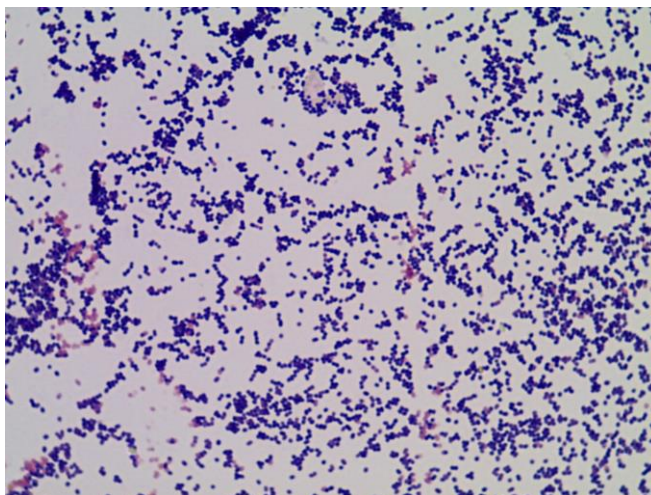
6.7.2.1 Formación del biofilm de *E. faecalis* de forma estática

A. Activación de la cepa de *E. faecalis* del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Maestría en Endodoncia de la UASLP

Se tomó una cepa clínica de *E. faecalis* del cepario respaldado en el laboratorio de Microbiología de la Maestría en Endodoncia de la Facultad de Estomatología de la UASLP se sembró en agar BHI (Infusión Cerebro-Corazón) con la ayuda de un asa y con el uso de un mechero, posteriormente se llevó a la incubadora por 24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Después de 24 horas, se tomó *E. faecalis* para obtener una concentración de 0.5 de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL) por medio de espectrofotómetro, la cual fue inoculada a los tubos de ensaye con los dientes para iniciar la formación del biofilm.

Se realizó tinción gram para verificar la pureza de *E. faecalis*. (Imágen 3)



Imágen 3. Tinción gram de *E. faecalis* libre de contaminación

B. Formación del biofilm

Las 55 muestras fueron trabajadas de forma escalonada, divididas en los grupos experimentales y los grupos control para la formación del biofilm de *E. faecalis*. El procedimiento se realizó en la cámara de flujo laminar (Labconco), la cual fue puesta en condiciones asépticas fue desinfectada con Lysol, alcohol al 96% y luz ultravioleta.

Se dividieron las muestras del primer grupo experimental en grupos de 5 raíces y fueron colocadas en tubos con 30 ml de medio de cultivo BHI los cuales fueron llevados a la incubadora por 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ para adaptación al medio de cultivo. Se realizó el mismo procedimiento con los otros dos grupos experimentales, así como con los dos grupos control.

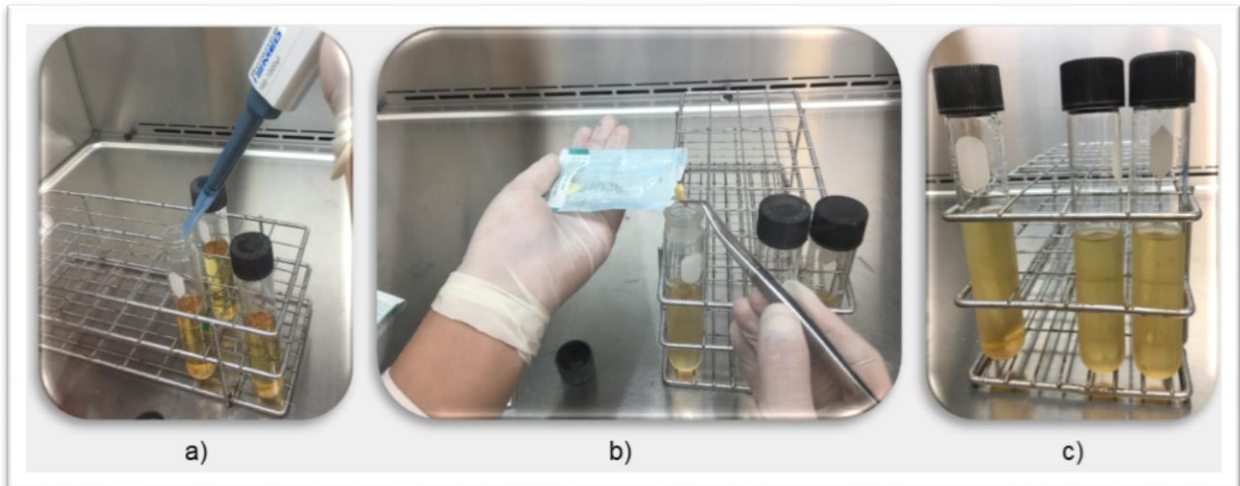
Se utilizó una solución de 0.5 de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL) de *E. faecalis* para inocular en cada tubo la carga bacteriana necesaria para iniciar la formación del biofilm.

Se realizó la inoculación del primer grupo experimental con 300 μL de solución 0.5 de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL) de *E. faecalis* y fueron colocados a la incubadora a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. (Imagen 4)

La formación del biofilm se llevó a cabo por un periodo de 30 días, realizando recambios del medio cada 48 horas y colocados en la incubadora a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

El procedimiento fue monitoreado realizando tinciones Gram cada 48 horas con el objetivo de verificar que no existiera contaminación en las muestras.

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

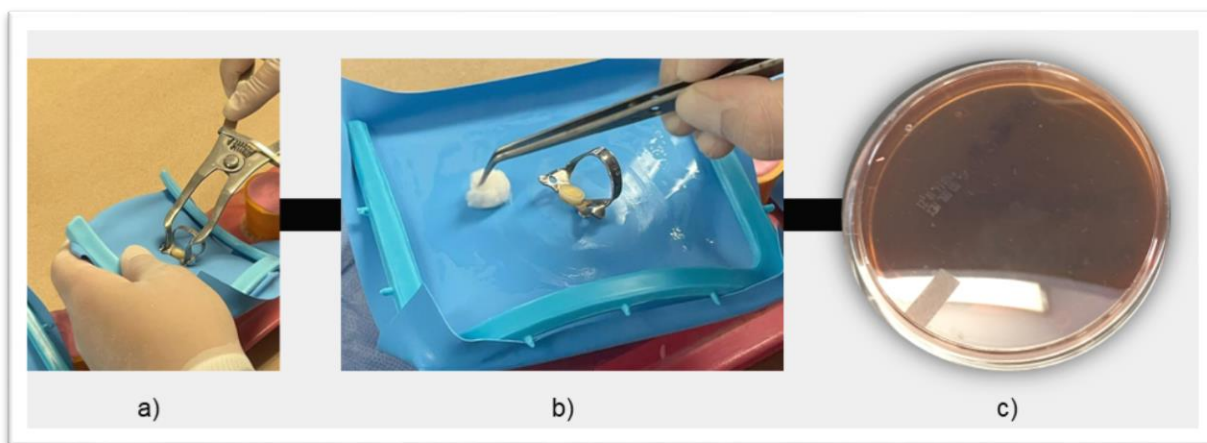


Imágen 4. a) Inoculación de solución 0.5 de McFarland de *E. faecalis* en tubos con medio de cultivo BHI. b) Introducción de las raíces a los tubos ya inoculados. c) Tubos con el primer grupo de estudio que fueron llevados a incubación para la formación de biofilm estático de 30 días.

6.7.3 Etapa de instrumentación

6.7.3.1 Preparación del campo operatorio

Se realizó aislamiento absoluto utilizando un dique de hule (Nic tone 5x5) y una grapa 00 (Hu-Friedy), se desinfectó el campo operatorio con peróxido de hidrogeno al 30%, hipoclorito de sodio al 5.25% y Tiosulfato de Sodio al 10% por 1 minuto cada uno, para continuar con una toma de muestra del campo operatorio; se realizó la siembra en un agar sangre (BD. BBLTM) y fue puesta en la incubación a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas para confirmar que el campo operatorio estuviera libre de contaminación. (Imágen 5).



Imágen 5. a) Aislamiento absoluto. b) Desinfección del campo operatorio con peróxido de hidrogeno al 30%, hipoclorito de sodio al 5.25% y tiosulfato de Sodio al 10% por 1 minuto cada uno. c) Toma de muestra en agar sangre para confirmar que estuviera libre de contaminación.

6.7.3.2 Toma de muestra pre-instrumentación

Los conductos radiculares fueron previamente humedecidos con una gota de medio de cultivo BHI estéril. Se llevaron dos puntas de papel del #15 estériles al conducto y se dejaron ahí durante un minuto cada una para posteriormente con la ayuda de unas

pinzas de curación estériles, colocarlas en un tubo de ensaye con 10 ml de medio de cultivo BHI estéril.

Las muestras pre-instrumentación fueron llevadas a la incubadora a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas para diluciones seriadas de 10^{-7} y 10^{-8} de la suspensión resultante y alícuotas de 0.1 ml se sembraron en agares con un aza en L (L-spread Shape), los cuales fueron llevados a incubar durante 24 horas a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y finalmente se calculó el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC ml-1) con el uso del contador de colonias (FELISA ®).

6.7.3.3 Instrumentación de los grupos experimentales

Las muestras de cada grupo se instrumentaron de acuerdo a las recomendaciones del fabricante y fueron llevadas a cabo por un mismo operador.

Entre cada instrumento se realizó irrigación del conducto con 2 ml de NaOCl al 2.25% utilizando una jeringa desechable de 5 ml y aguja Endoeze (Ultradent, Products, INC); así como, un protocolo de irrigación final: 2ml de NaOCl al 2.25%, 2 ml de solución salina, EDTA al 17% por 1 minuto y 2 ml de solución salina.

Grupo 1: instrumentación con Hyflex™ EDM (Coltene)

El conducto se permeó con una lima K #15 a longitud de trabajo.

Se ajustó el motor X-Smart Plus (Dentsply Sirona) y se aseguró que previo a introducir la lima esta se encontrara girando, con el conducto inundado de NaOCl se inició con la lima 25/.12 (Orifice Opener). A continuación, se utilizó la lima de acceso 10/.05 (Glidepath) para crear una trayectoria hasta la longitud de trabajo. Finalmente se introdujo la lima 25/06 (One file) a la longitud de trabajo con pequeños movimientos de entrada y salida.

Entre cada cambio de lima se realizó irrigación del conducto con 2 ml de NaOCl al 2.25% utilizando una jeringa desechable de 5 ml y aguja Endoeze (Ultradent, Products, INC); haciendo la aspiración simultanea de la solución irrigante; al terminar la instrumentación del conducto se realizó el protocolo de irrigación final antes mencionado.

Grupo 2: instrumentación con ZenFlex™ (Kerr Dental)

El conducto se permeó con una lima K #15 a longitud de trabajo.

Se ajustó el motor X-Smart Plus (Dentsply Sirona) y se aseguró que previo a introducir la lima esta se encontrara girando, con el conducto inundado de NaOCl se inició con el Traverse Orifice Opener (25/.08) de 17 mm con movimientos controlados hacia apical, se retiró completamente la lima con el fin de limpiar las estrías y se irrigó con 2 ml de NaOCl, se continuó con el Traverse Glide Path (o.13/.06) a longitud de trabajo; posteriormente se continuó con la secuencia del blíster de instrumentación a longitud de trabajo. Iniciando con la lima rotatoria #20 girando y avanzando lentamente, en caso de encontrar resistencia, se retiró la lima y se irrigó, se volvió a introducir la lima rotatoria al conducto hasta alcanzar la longitud de trabajo. Se repitió el procedimiento con la siguiente lima rotatoria #25, #30, #35, #40 y #45 a longitud de trabajo.

Entre cada cambio de lima se realizó irrigación del conducto con 2 ml de NaOCl al 2.25% utilizando una jeringa desechable de 5 ml y aguja Endoeze (Ultradent, Products, INC); haciendo la aspiración simultanea de la solución irrigante se realizó el protocolo de irrigación final ya mencionado.

Grupo 3: Instrumentación con Protaper Gold (Dentsply-Sirona, Baillagues, Suiza)

El conducto se permeó con una lima K #15 a longitud de trabajo.

Se ajustó el motor X-Smart Plus (Dentsply Sirona) y se aseguró que previo a introducir la lima esta se encontrara girando, con el conducto inundado de NaOCl se introdujo la lima Sx en el primer 1/3 con el fin de dar la conformación cervical, después se introdujo la lima S1 de manera pasiva con movimientos de entrada y salida a longitud de trabajo. Después se continuó con la secuencia S2, F1, F2 y F3; cada una a longitud de trabajo con movimientos suaves, lentos y controlados hasta lograr la longitud de trabajo.

Entre cada cambio de lima se realizó irrigación del conducto con 2 ml de NaOCl al 2.25% utilizando una jeringa desechable de 5 ml y aguja Endoeze (Ultradent, Products,

INC); haciendo la aspiración simultanea de la solución irrigante; al terminar la instrumentación del conducto se realizó el protocolo de irrigación final.

Al terminar la instrumentación de los grupos se procedió inmediatamente a la toma de muestra post-instrumentación (procedimiento que se explica más adelante).

Grupo 4: control positivo: No se realizó instrumentación de las muestras, con el fin de que el biofilm permaneciera intacto.

Grupo 5: Control negativo: Las muestras estériles permanecieron intactas dentro del medio de cultivo de BHI estéril.

6.7.3.4 Toma de muestra post-instrumentación

Una vez terminada la instrumentación del conducto radicular se colocó nuevamente una gota de medio de cultivo BHI estéril, fueron introducidas 2 puntas de papel #15 estériles por 1 minuto para ser llevadas a un tubo con 10 ml de medio de cultivo de BHI estéril.

Las muestras post-instrumentación se incubaron a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas para diluciones seriadas de 10^{-4} y 10^{-5} , de la suspensión resultante y alícuotas de 0.1 ml se sembraron en agares con un aza en L (L-spread Shape), los cuales fueron llevados a incubar durante 24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ y finalmente se llevó a cabo el conteo de colonias por mililitro (UFC ml-1) con el uso del contador de colonias (FELISA ®).

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

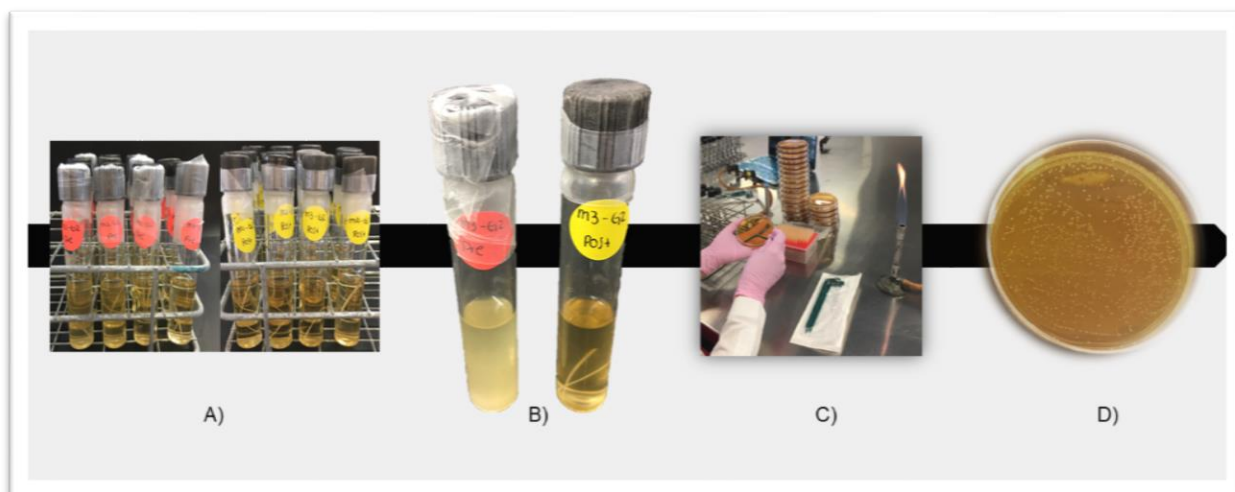


Imágen 6. A) y B) Aislamiento absoluto de las piezas con dique de goma y grapa y toma de muestra de campo operatorio para confirmar la descontaminación del campo. C) Toma de muestra pre-instrumentación con 2 puntas de papel (1min cada una). D) Instrumentación de las piezas de acuerdo a las instrucciones de cada fabricante. E) Irrigación entre cada instrumento con hipoclorito de sodio al 2.25% y una irrigación final con 2ml de hipoclorito de sodio al 2.25%, 2 ml de solución salina, EDTA al 17% por 1 min y 2 ml de solución salina. F) Toma de muestra post-instrumentación con 2 puntas de papel (1min cada una). G, H e I) Diluciones seriadas y siembra en agar BHI. J) Conteo de UFC.

6.7.4 Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y observación al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)

6.7.4.1 Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

Los tubos con las muestras pre-instrumentación y post-instrumentación fueron llevadas a la incubadora donde permanecieron durante 24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. Después de 24 horas se evaluó la concentración bacteriana de las muestras mediante escala de McFarland. Se realizaron diluciones seriadas dentro de la campana de flujo laminar para asegurar el control de esterilidad; alícuotas de 0.1 ml se sembraron en agares los cuales fueron llevados a incubar durante 24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ y finalmente se llevó a cabo el conteo de colonias por mililitro (UFC ml⁻¹) con el uso del contador de colonias (FELISA ®). (Imágen 7)



Imágen 7. A) Muestras pre y post-instrumentación puestas a incubación durante 24 h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. B) Evaluación de la concentración bacteriana mediante escala de McFarland. C) Diluciones y siembra en placas de agar BHI, puestas a incubadora 24 h. D) Conteo de UFC.

6.7.4.2 Observación al microscopio electrónico de barrido (MEB)

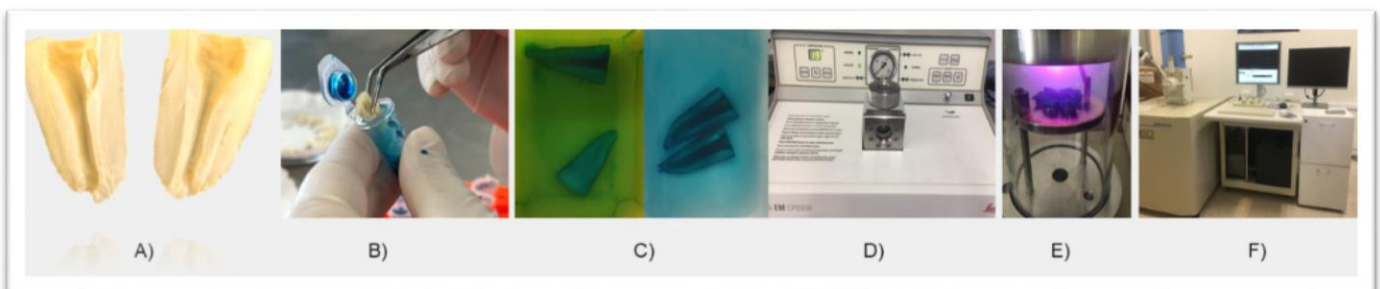
6.7.4.2.1 Preparación de las muestras biológicas

Se realizaron cortes longitudinales en sentido vestíbulo lingual de cada una de las muestras.

Fue llevado a cabo el procedimiento para lectura de muestras biológicas en MEB, de la siguiente manera:

- a) Fijación en una mezcla proporción 1:1 de azul de alciano 2% (HYCEL de México S.A. de C.V.) y glutaraldehído (Sigma-Aldrich, USA) grado 1, 25%.
- b) 24 horas después, deshidratación utilizando alcoholes en porcentajes crecientes 20, 40, 60, 70, 80, 90% hasta llegar al alcohol absoluto grado reactivo 99.98% de pureza.
- c) Secado al punto crítico; 7 ciclos de lavado con CO₂ (LeicaEM CPD030, USA)
- d) Baño de oro; las muestras fueron colocadas y selladas con cinta de carbón en dispositivos de lectura con placas de doble carbón, para recubrirse en oro (Fine Coat On Sputter JFC-1100). (Imágen 8)

Las lecturas en MEB del ápice radicular se realizaron a magnificaciones de 200X, 400X, 1000X y 2000X.



Imágen 8. Preparación de muestras para observación al MEB. A) Corte longitudinal. B) Fijación C) Deshidratación en alcoholes D) Secado al punto crítico. E) Baño de oro. F) Observación al MEB.

7. RESULTADOS

El análisis de los resultados se llevó a cabo de la siguiente manera:

1. Reducción bacteriana a través de conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) pre-instrumentación y post-instrumentación y análisis estadístico.
2. Observación del tercio apical mediante microscopia electrónica de barrido (MEB) a 200x, 400x, 1000x y 2000x

Los resultados fueron llevados al programa SPSS versión 23 para su análisis.

Reducción de carga bacteriana

Todas las placas fueron analizadas para el conteo de UFC con el uso del contador de colonias (FELISA ®). Se recolectaron los datos pre y post- instrumentación de cada grupo y fueron vaciados en una tabla, (Tabla 5, 6 y 7) donde se obtuvo el número de UFC/mL de la muestra inicial a través de la fórmula:

$$UFC/mL = \frac{(N^{\circ} UFC)(FD)}{Vol.inóculo (mL)}$$

UFC/mL= Unidades Formadoras de Colonias por mililitro

Nº UFC= Número de colonias

FD= Factor de dilución

Vol. inóculo= Volúmen del inóculo

Una vez obtenido el número se convirtió a Log 10 y con ello la cantidad de unidades formadoras de colonias por mililitro de cada tubo de la muestra.

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Tabla 5. Resultados del grupo 1 pre y post-instrumentación

Grupo 1 Hyflex™ EDM		
Nº de muestra	Log 10 UFC/mL	
	Pre-instrumentación	Post-instrumentación
1	11.584	0.000
2	10.619	0.000
3	10.815	0.000
4	10.698	0.842
5	10.783	0.965
6	10.980	1.950
7	10.274	0.000
8	10.428	0.000
9	10.243	0.000
10	10.124	0.658
11	10.980	0.449
12	12.188	0.000
13	10.964	0.000
14	11.201	0.000
15	11.152	0.000

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Tabla 6. Resultados del grupo 2 pre y post-instrumentación.

Grupo 2 Zenflex™		
Nº de muestra	Log 10 UFC/mL	
	Pre-instrumentación	Post-instrumentación
1	11.352	1.913
2	11.183	1.633
3	11.215	1.721
4	11.232	0.000
5	11.130	0.000
6	11.204	0.000
7	11.143	0.000
8	11.176	0.000
9	11.024	0.000
10	10.688	0.000
11	10.667	0.000
12	10.809	0.000
13	11.655	0.000
14	11.489	0.000
15	11.688	0.000

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Tabla 7. Resultados del grupo 3 pre y post-instrumentación

Grupo 3 Protaper Gold™		
Nº de muestra	Log 10 UFC/mL	
	Pre-instrumentación	Post-instrumentación
1	11.119	1.844
2	11.437	7.072
3	11.251	7.195
4	11.480	0.000
5	11.113	1.342
6	11.477	2.124
7	10.848	0.889
8	11.477	0.102
9	10.415	0.000
10	10.760	0.000
11	11.041	0.000
12	11.812	0.000
13	10.848	0.000
14	10.998	0.000
15	11.812	0.000

Datos resaltados eliminados

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Grupo Hyflex™EDM	Pre-instrumentación	Post-instrumentación
Mínimo	10.124	0.000
Mediana	10.815	0.000
Máximo	12.188	1.965

Grupo Zenflex™	Pre-instrumentación	Post-instrumentación
Mínimo	10.667	0.000
Mediana	11.183	0.000
Máximo	11.688	1.913

Grupo Protaper Gold™	Pre-instrumentación	Post-instrumentación
Mínimo	10.415	0.000
Mediana	11.119	0.000
Máximo	11.812	2.124

Tabla 8. Comparación de medias de los tres grupos de instrumentación y porcentaje de reducción bacteriana

Grupo	N	Log 10UFC/mL (DS)			
		Pre-instrumentación	Post-instrumentación	Log Red	% de Reducción bacteriana
Hyflex EDM	15	10.87 (0.54)	0.324 (0.567)	10.544 (0.822)	99.99999999%
Zenflex	15	11.177 (0.302)	<u>0.351 (0.728)</u>	<u>10.826 (0.751)</u>	99.99999999%
Protaper Gold	13	11.170 (0.419)	0.485 (0.788)	10.684 (0.871)	99.99999999%

Log10 UFC/mL= Logaritmo 10 de las Unidades Formadoras de Colonias por mililitro

Log Red= Logaritmo de reducción

DS= Desviación estándar

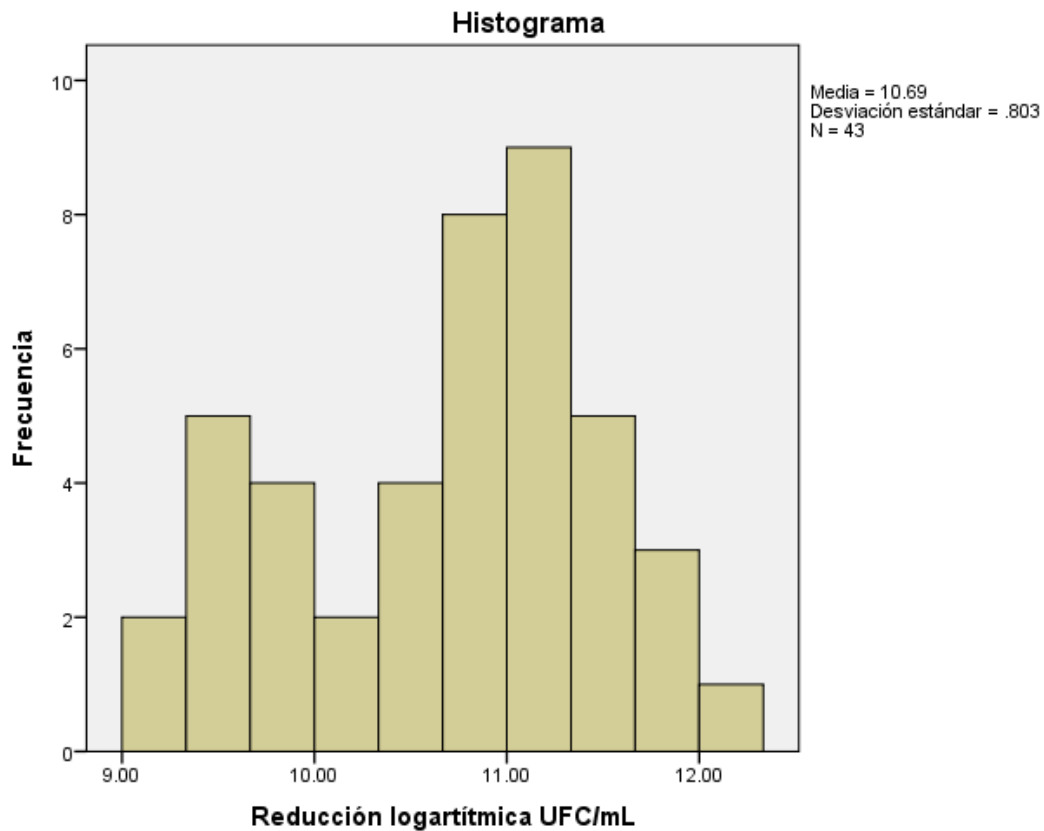
En la tabla se observa las medias de cada grupo. Hyflex™ EDM es el grupo que muestra un menor número en el resultado post-instrumentación y Zenflex™ el mayor logaritmo de reducción de UFC, seguido de Protaper Gold™ y Hyflex™ EDM con el menor logaritmo de reducción.

Análisis estadístico

Prueba de normalidad

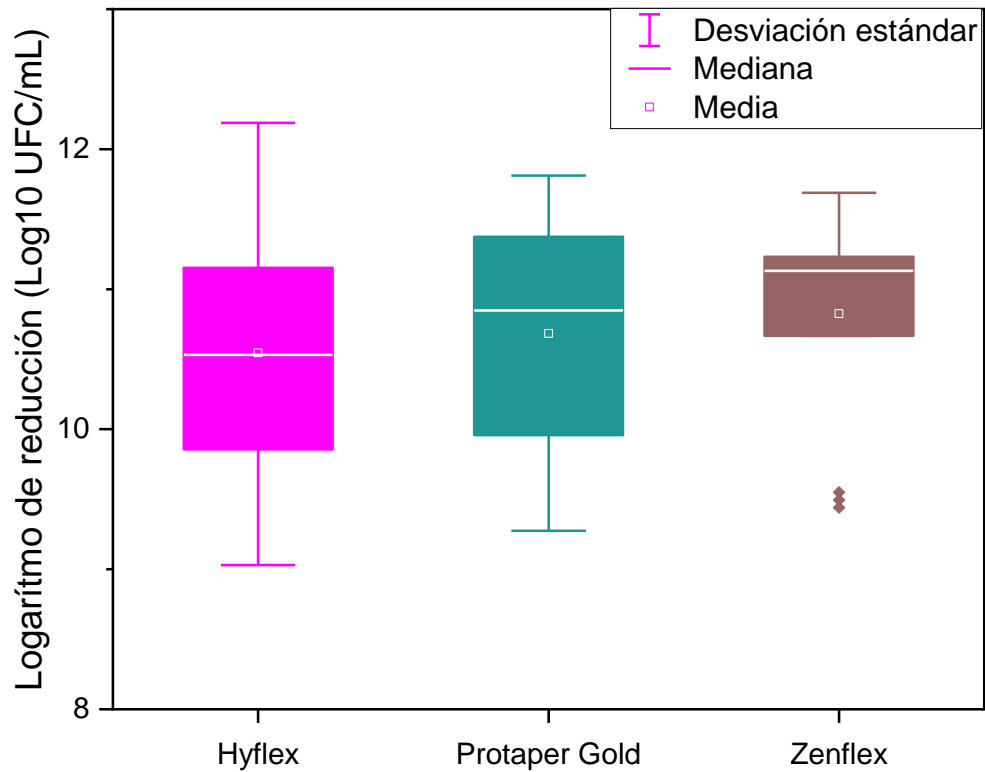
Tabla 9. En el análisis de datos para la prueba de normalidad, se encontró que los datos siguen una distribución normal, por lo que se aplica prueba paramétrica.

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Reducción logarítmica UFC/mL	.958	43	.117



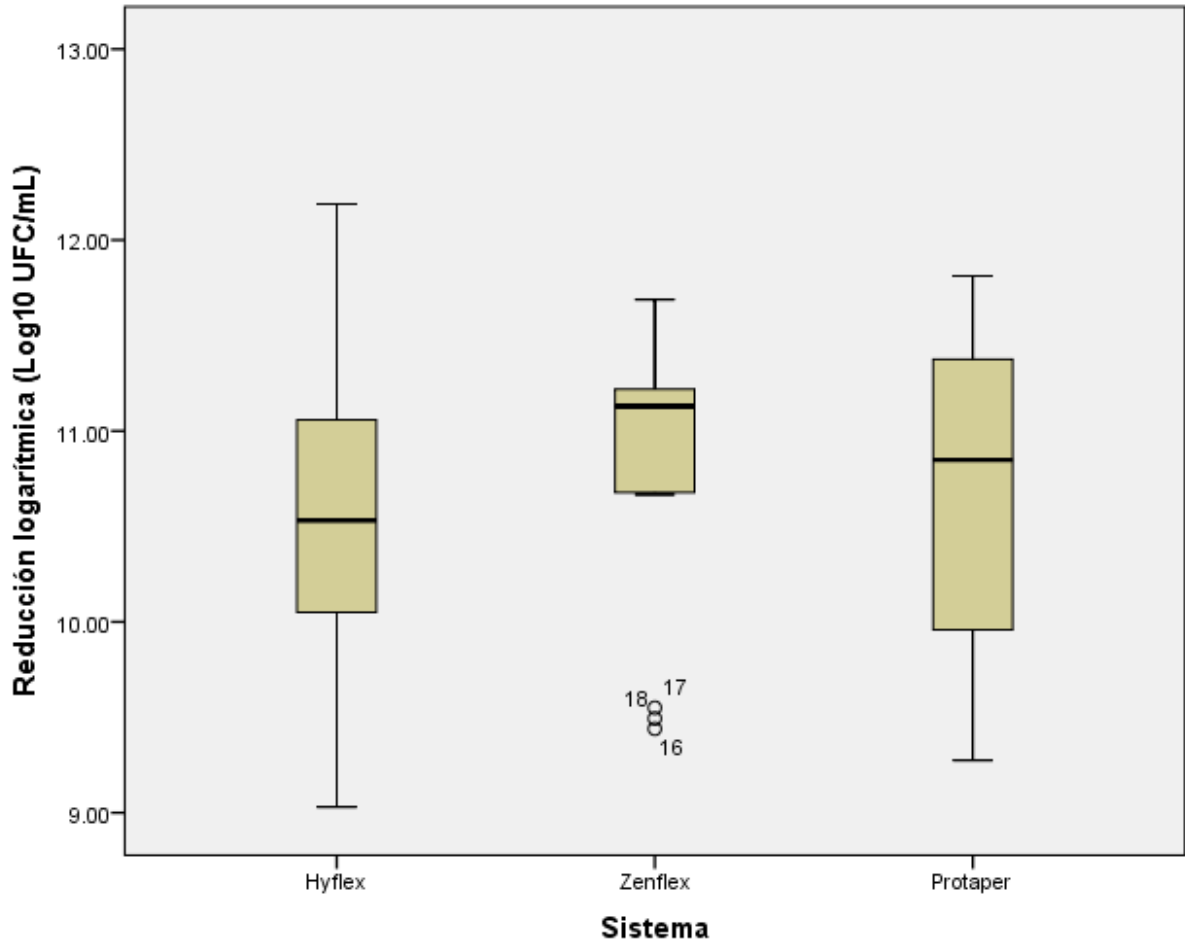
Gráfica 1. Distribución total de los datos analizados, distribución normal por lo que el análisis será mediante ANOVA.

Distribución de datos por grupo



Gráfica 2. Distribución de datos por grupo, observando una desviación estándar mayor en el grupo Hyflex™ y Protaper Gold™. Zenflex™ es el grupo con menor desviación estándar y por lo tanto los datos son más consistentes para el Log10UFC/mL.

Distribución de datos por grupo



Gráfica 3. Resultados de la reducción de UFC/mL de los tres grupos estudiados. El número de muestras post-instrumentación de los grupos Hyflex™ y Protaper Gold™ resultaron más variados que en el grupo Zenflex™ aumentando la desviación estándar, Zenflex™ obtuvo el mismo resultado en la mayoría de sus muestras post-instrumentación.

Prueba ANOVA para comparación de medias en 3 grupos de distribución normal

Tabla 10. Un valor de $p > 0.05$, indica igualdad entre los grupos, por lo que no existe diferencia estadísticamente significativa tras el tratamiento con los diferentes sistemas analizados.

ANOVA

Reducción logarítmica (Log10 UFC/mL)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	.594	2	.297	.449	.642
Dentro de grupos	26.480	40	.662		
Total	27.074	42			

Comparación entre grupos

Tukey y Bonferroni

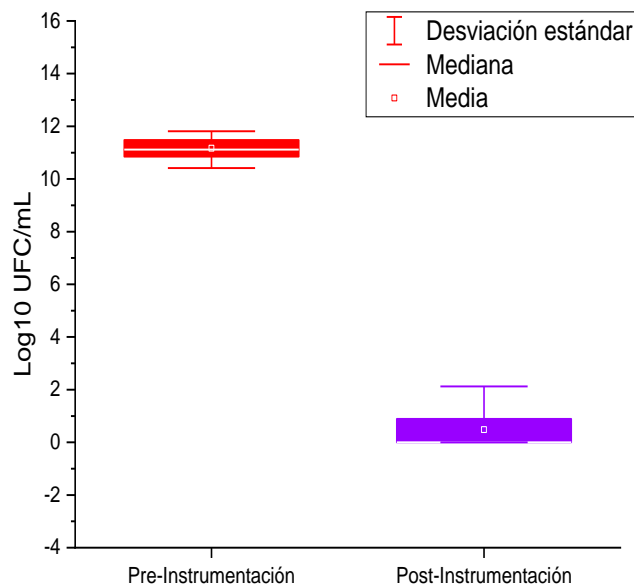
Las pruebas de Tukey y Bonferroni analizan grupo a grupo si existe una diferencia entre las combinaciones de los mismos

Tabla 11. Comparación entre grupos. Significancias mayores a 0.05 indican que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos analizados. Las diferencias de medias entre grupos muestran diferencias menores a 0.3 unidades.

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Reducción logarítmica (Log10 UFC/mL)							
	(I) Sistema	(J) Sistema	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	Hyflex	Zenflex	-.28140	.29710	.614	-1.0045	.4417
		Protaper Gold	-.13993	.30831	.893	-.8903	.6105
	Zenflex	Hyflex	.28140	.29710	.614	-.4417	1.0045
		Protaper Gold	.14147	.30831	.891	-.6089	.8919
	Protaper Gold	Hyflex	.13993	.30831	.893	-.6105	.8903
		Zenflex	-.14147	.30831	.891	-.8919	.6089
Bonferroni	Hyflex	Zenflex	-.28140	.29710	1.000	-1.0238	.4610
		Protaper Gold	-.13993	.30831	1.000	-.9104	.6305
	Zenflex	Hyflex	.28140	.29710	1.000	-.4610	1.0238
		Protaper Gold	.14147	.30831	1.000	-.6290	.9119
	Protaper Gold	Hyflex	.13993	.30831	1.000	-.6305	.9104
		Zenflex	-.14147	.30831	1.000	-.9119	.6290

Gráficas de reducción bacteriana en Log10 de Unidades Formadoras de Colonias de cada grupo pre y post-instrumentación. Análisis estadístico para grupos pares T-student.

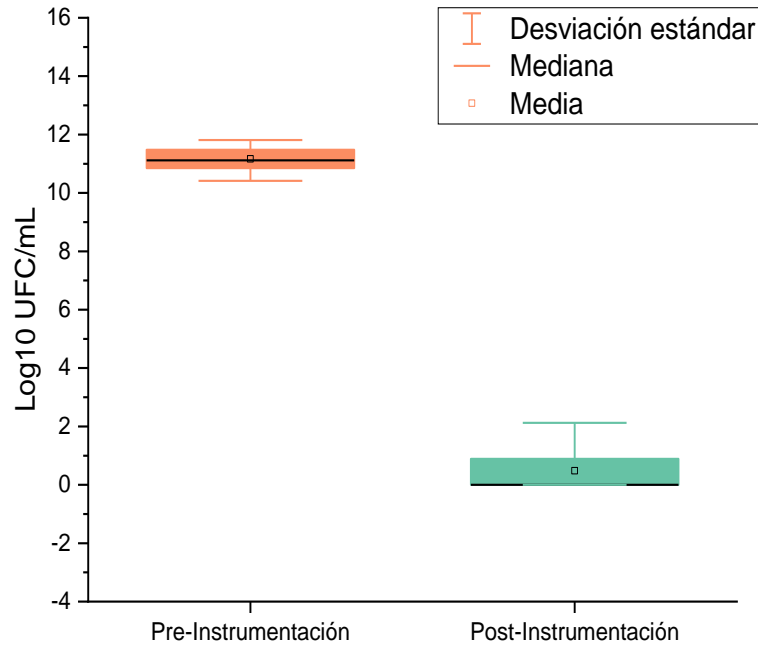
Hyflex™ EDM



Gráfica 4. Resultados de pre y post-instrumentación del grupo 1 Hyflex™EDM.

Grupo de instrumentación con el sistema Hyflex™ EDM se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras pre y post-instrumentación con una $p= 0.001$, análisis estadístico utilizando T-student.

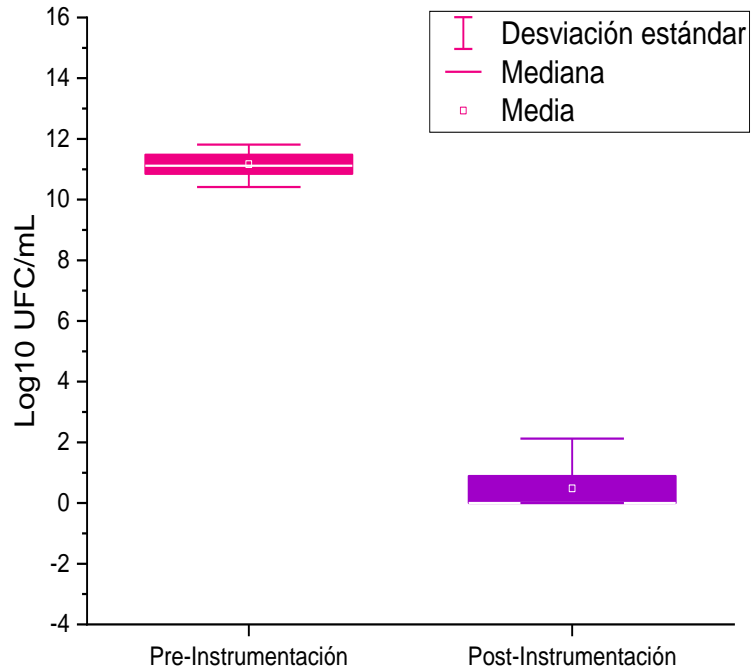
Zenflex™



Gráfica 5. Resultados de pre y post-instrumentación del grupo 2 ZenFlex™.

Grupo de instrumentación con el sistema Zenflex™ se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras pre y post-instrumentación con una $p=0.001$, análisis estadístico utilizando T-student.

Protaper Gold™



Gráfica 6. Resultados de pre y post-instrumentación del grupo 3 Protaper Gold™.

Grupo de instrumentación con el sistema Protaper Gold™ se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras pre y post-instrumentación con una $p= 0.001$, análisis estadístico utilizando T-student.

En las siguientes imágenes representativas de cada grupo, se muestra el desarrollo de *E. faecalis* en medio de cultivo para evaluar mediante la escala de McFarland. Muestras pre y post-instrumentación sembradas en agar BHI de los tres grupos de estudio.

GRUPO 1 Hyflex™ EDM

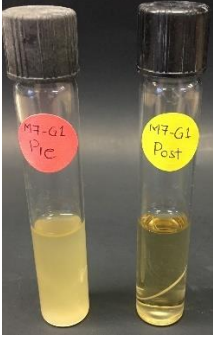
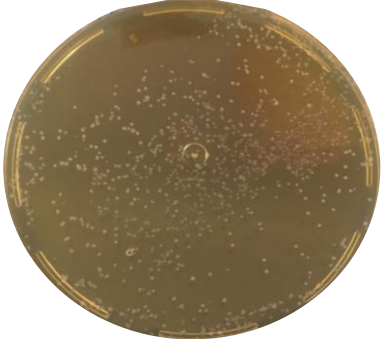
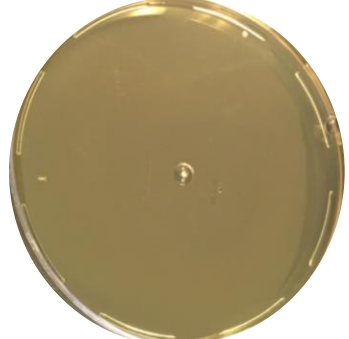
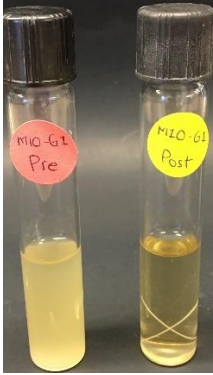

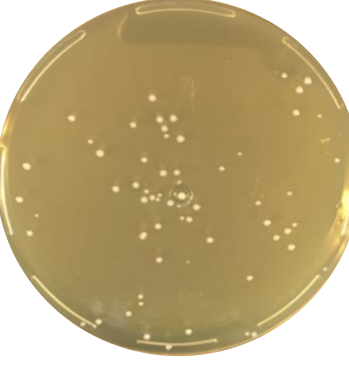
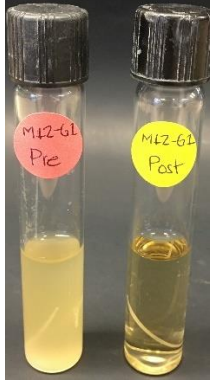
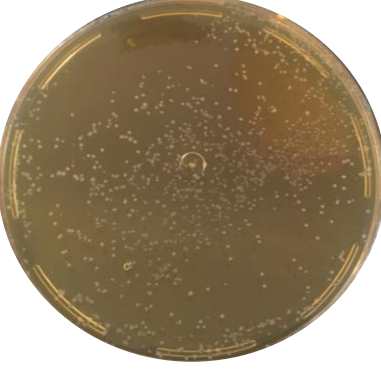

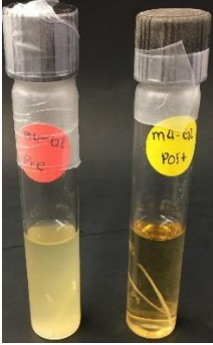
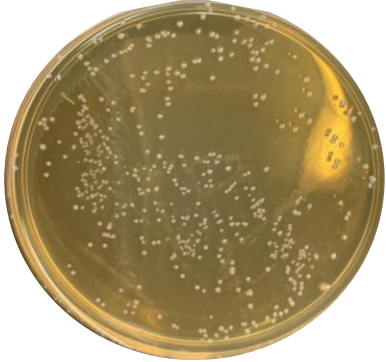
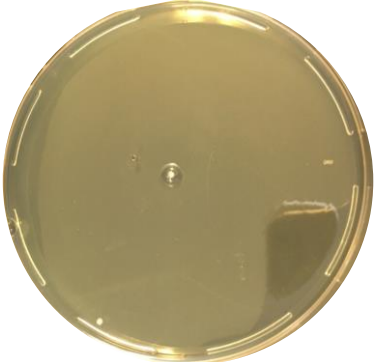
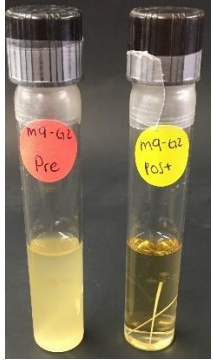
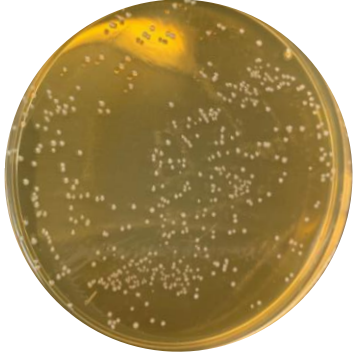
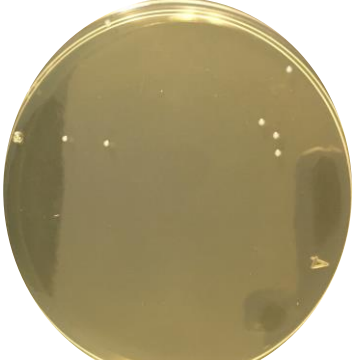
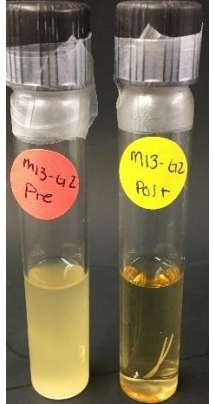
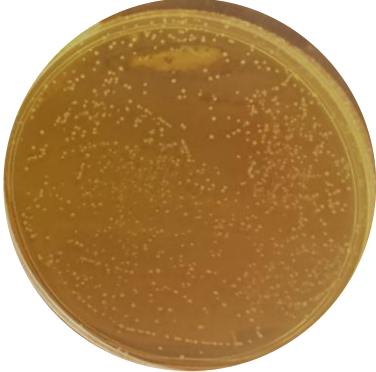
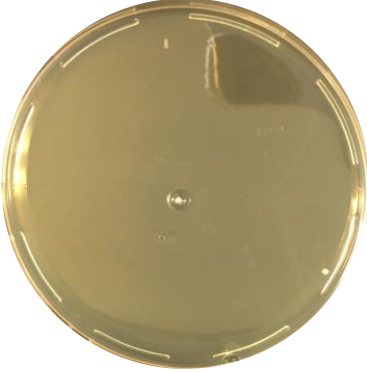
Medición de la escala de McFarland	Muestra pre-instrumentación Dilución 10 ⁻⁸	Muestra post-instrumentación Dilución 10 ⁻⁵
		
		
		

Imagen 9. Resultado de la siembra en agar BHI pre y post-instrumentación del grupo 1. En la primera columna se observan los tubos para evaluación con la escala de McFarland, segunda columna muestras pre-instrumentación y tercera columna muestras post-instrumentación.

GRUPO 2 ZenFlex™

Medición de la escala de McFarland	Muestra pre-instrumentación Dilución 10 ⁻⁸	Muestra post-instrumentación Dilución 10 ⁻⁵
		
		
		

Imágen 10. Resultado de la siembra en agar BHI pre y post-instrumentación del grupo 2. En la primera columna se observan los tubos para evaluación con la escala de McFarland, segunda columna muestras pre-instrumentación y tercera columna muestras post-instrumentación.

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

GRUPO 3 Protaper Gold™

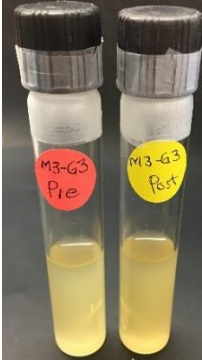

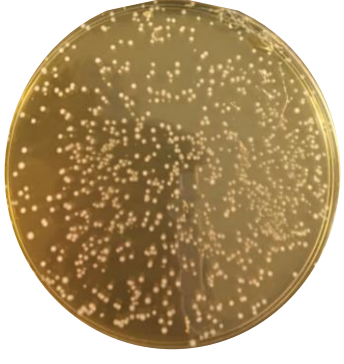
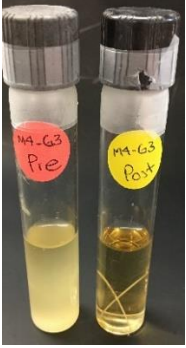
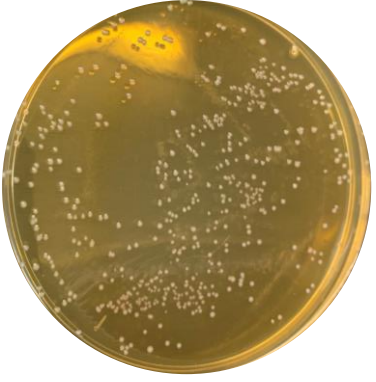
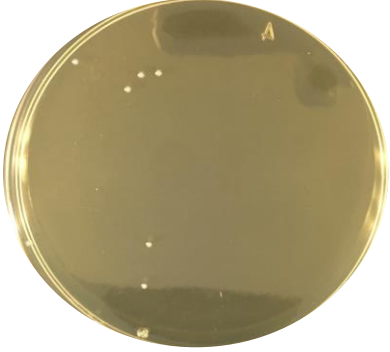


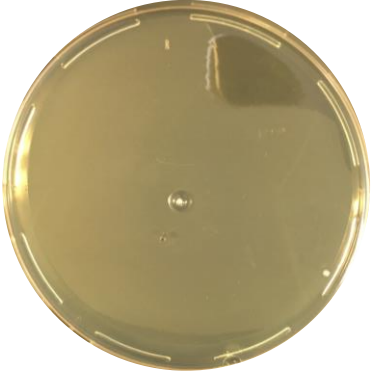
Medición de la escala de McFarland	Muestra pre-instrumentación Dilución 10 ⁻⁸	Muestra post-instrumentación Dilución 10 ⁻⁵
		
		
		

Imagen 11. Resultado de la siembra en agar BHI pre y post-instrumentación del grupo 3. En la primera columna se observan los tubos para evaluación con la escala de McFarland, segunda columna muestras pre-instrumentación y tercera columna muestras post-instrumentación.

Observación del tercio apical mediante microscopia electrónica de barrido (MEB)

Grupo 1. Hyflex™ EDM, observación al MEB del tercio apical

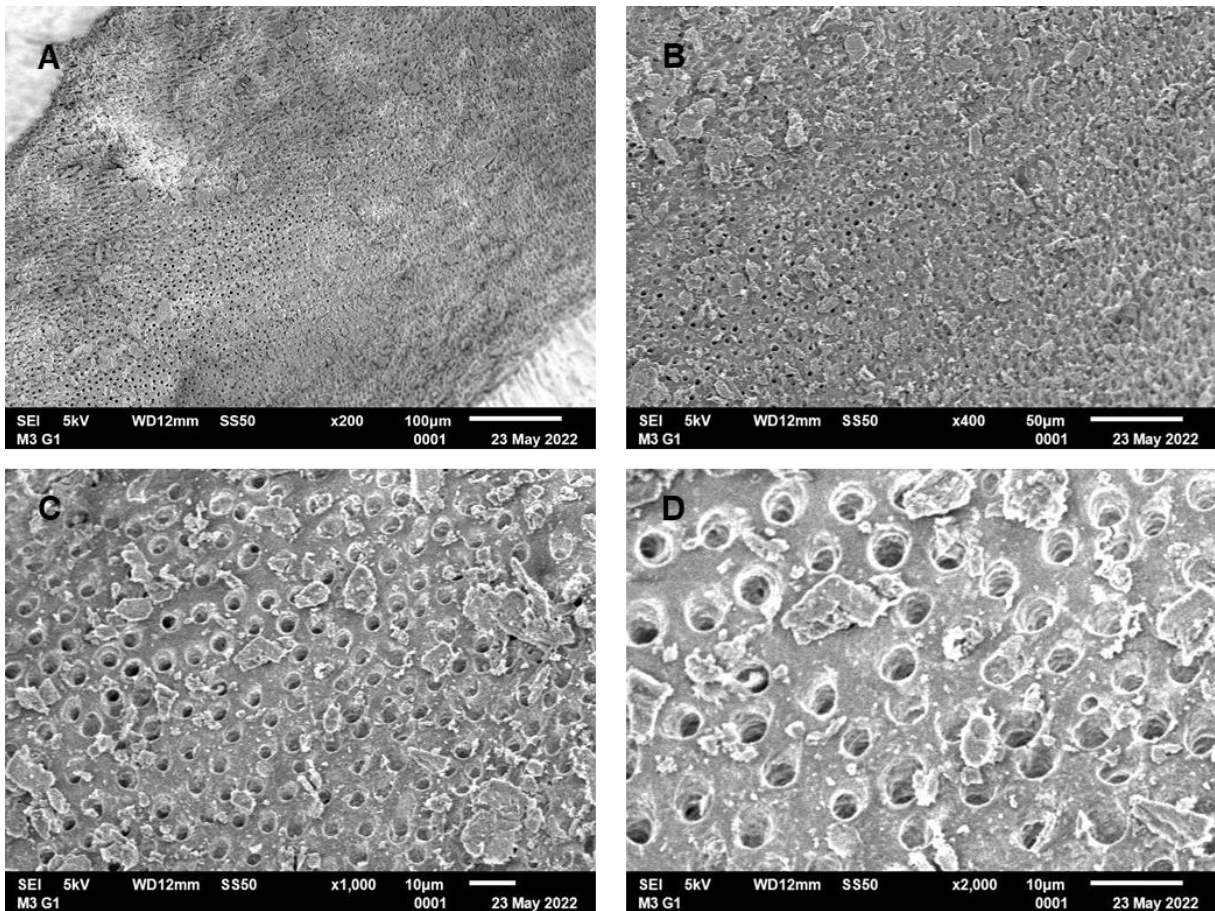
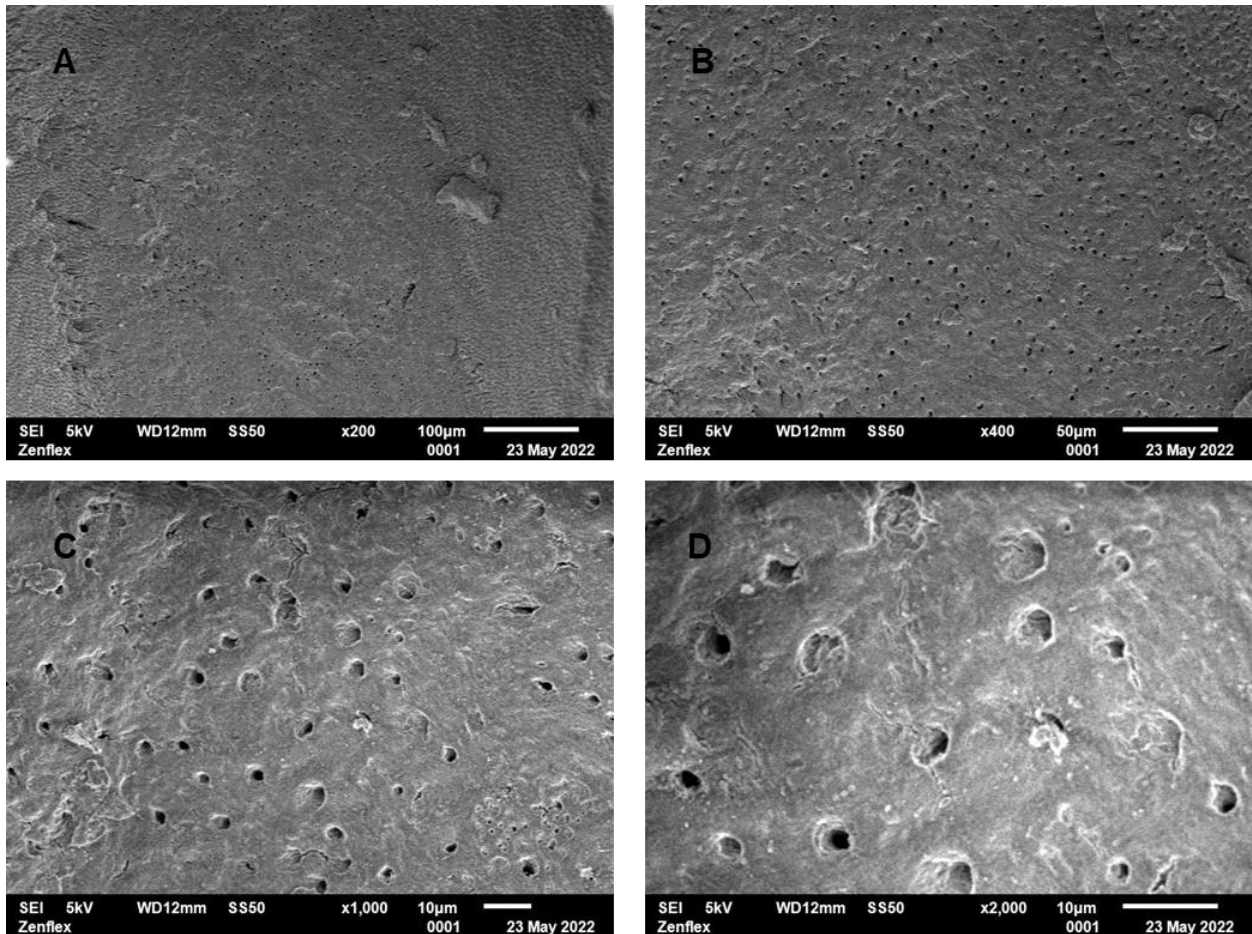


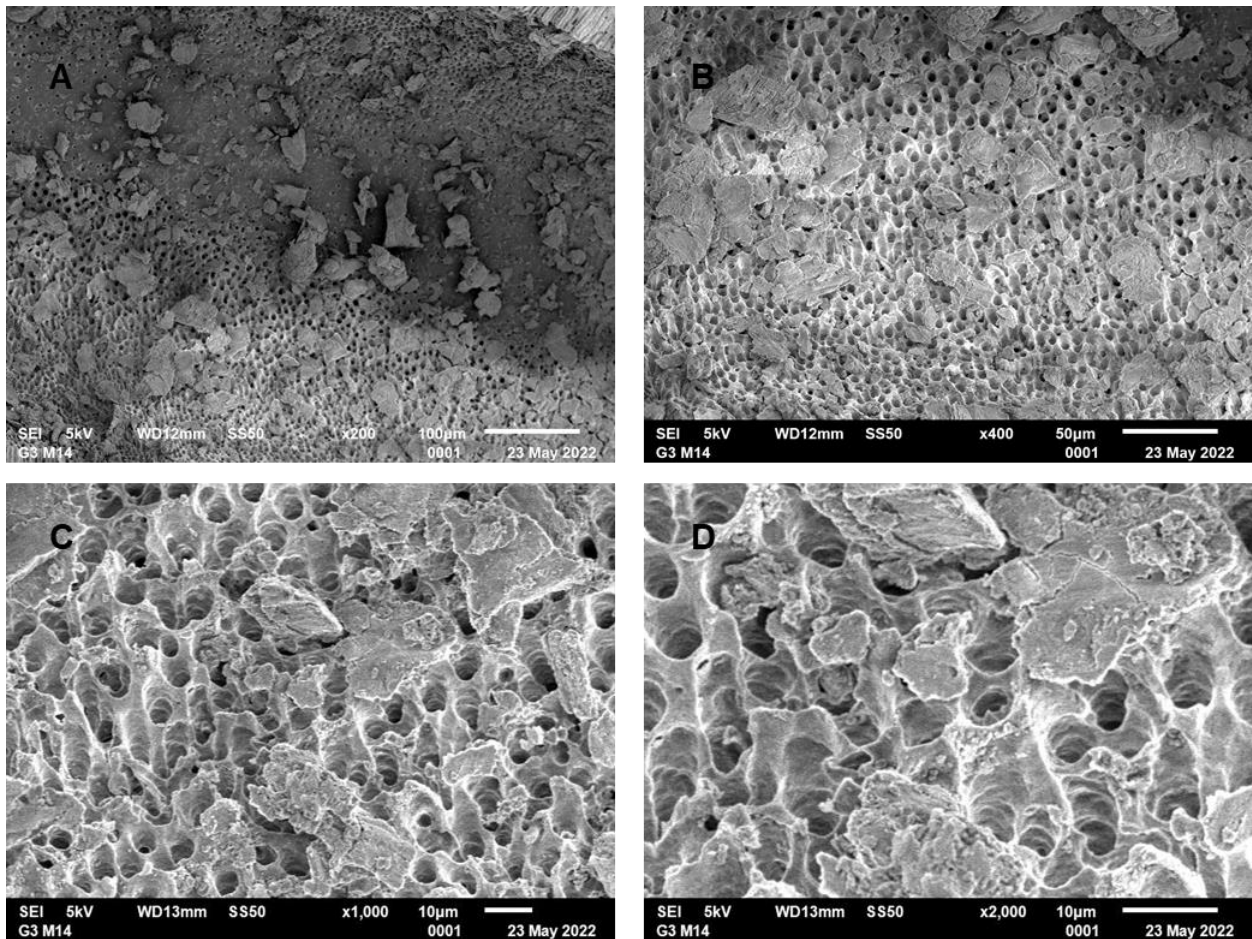
Imagen 12. Observación al MEB del grupo 1 Hyflex™ EDM. A) Magnificación a 200x, 50% de túbulos permeables. B) Magnificación a 400x, 50% de túbulos permeables. C) Magnificación a 1000x, 75% de túbulos permeables. D) Magnificación a 2000x, 75% de túbulos permeables.

Grupo 2. ZenFlex™; observación al MEB del tercio apical



Imágen 13. Observación al MEB del grupo 2 ZenFlex™. A) Magnificación a 200x, 50% de túbulos permeables. B) Magnificación a 400x, 50% de túbulos permeables. C) Magnificación a 1000x, 50% de túbulos permeables. D) Magnificación a 2000x, 50% de túbulos permeables.

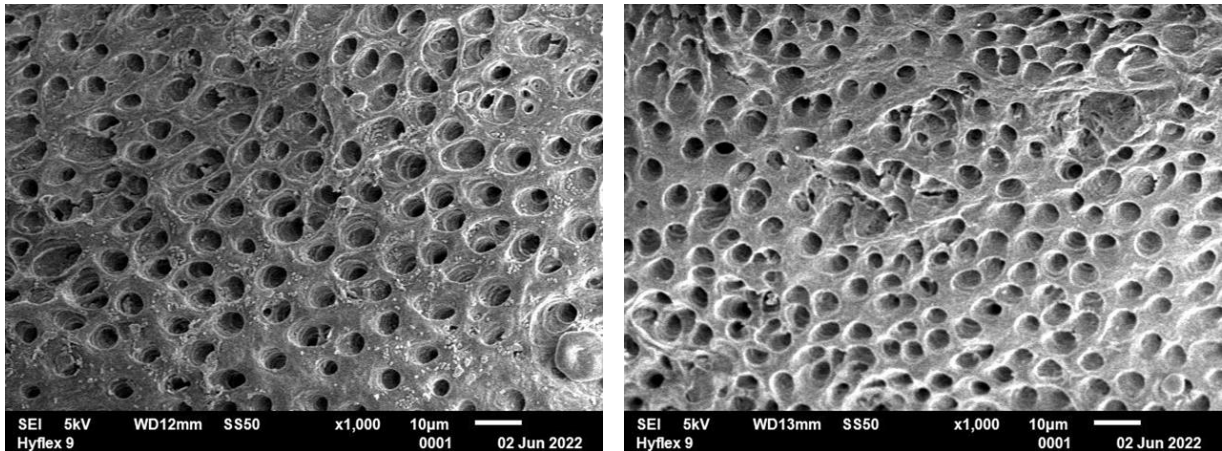
Grupo 3. Protaper Gold™; observación al MEB del tercio apical



Imágen 14. Observación al MEB del grupo 3 Protaper Gold™. A) Magnificación a 200x, 25% de túbulos permeables. B) Magnificación a 400x, 50% de túbulos permeables. C) Magnificación a 1000x, 75% de túbulos permeables. D) Magnificación a 2000x, 75% de túbulos permeables.

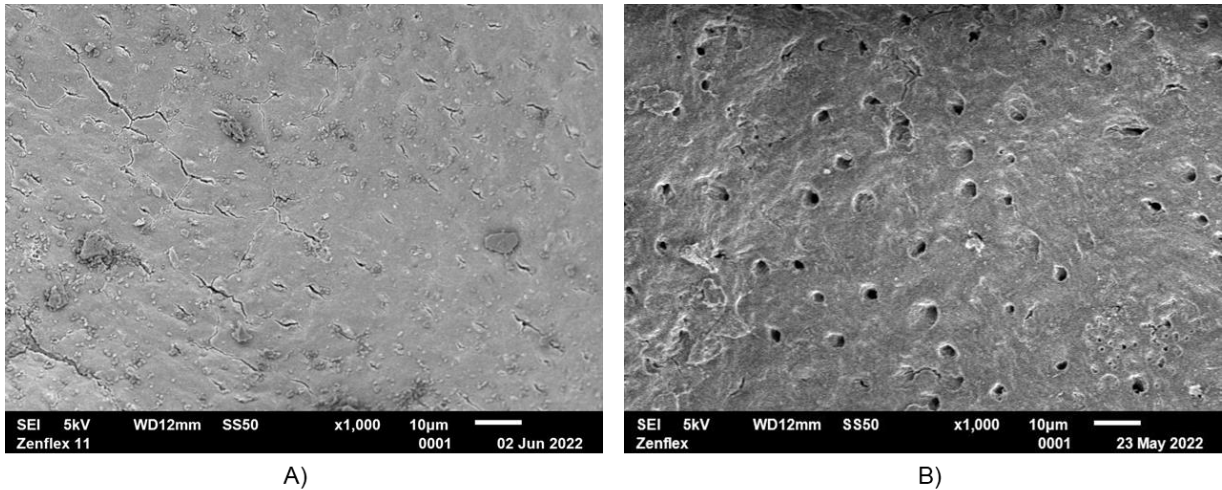
Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Imágenes a 1000x de Hyflex™ EDM



Imágen 15. Túbulos 100% permeables.

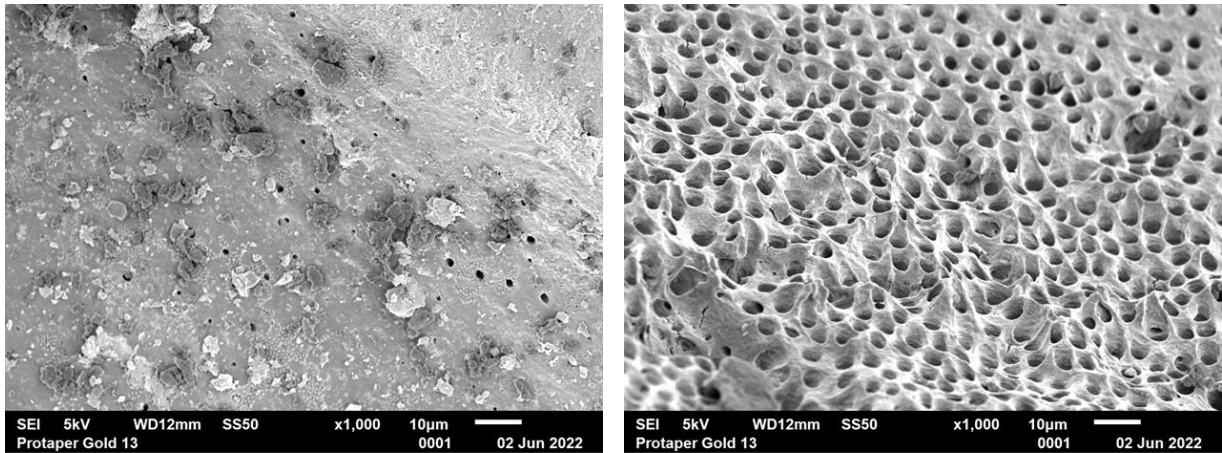
Imágenes a 1000x de Zenflex™



Imágen 16. A) 0% de túbulos dentinarios permeables. B) 50% de túbulos dentinarios permeables.

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Imágenes a 1000x de Protaper Gold™

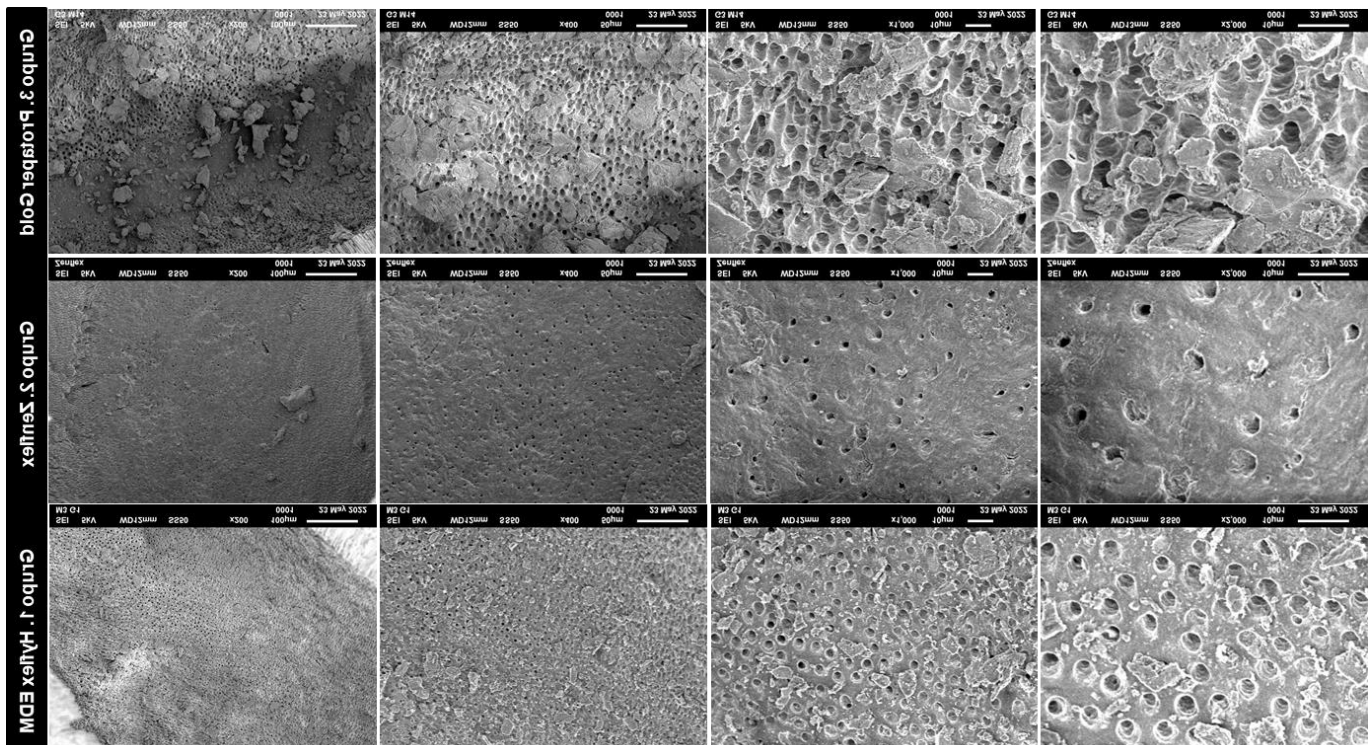


A)

B)

Imágen 17. A) 25% de túbulos permeables. B) 100% túbulos permeables.

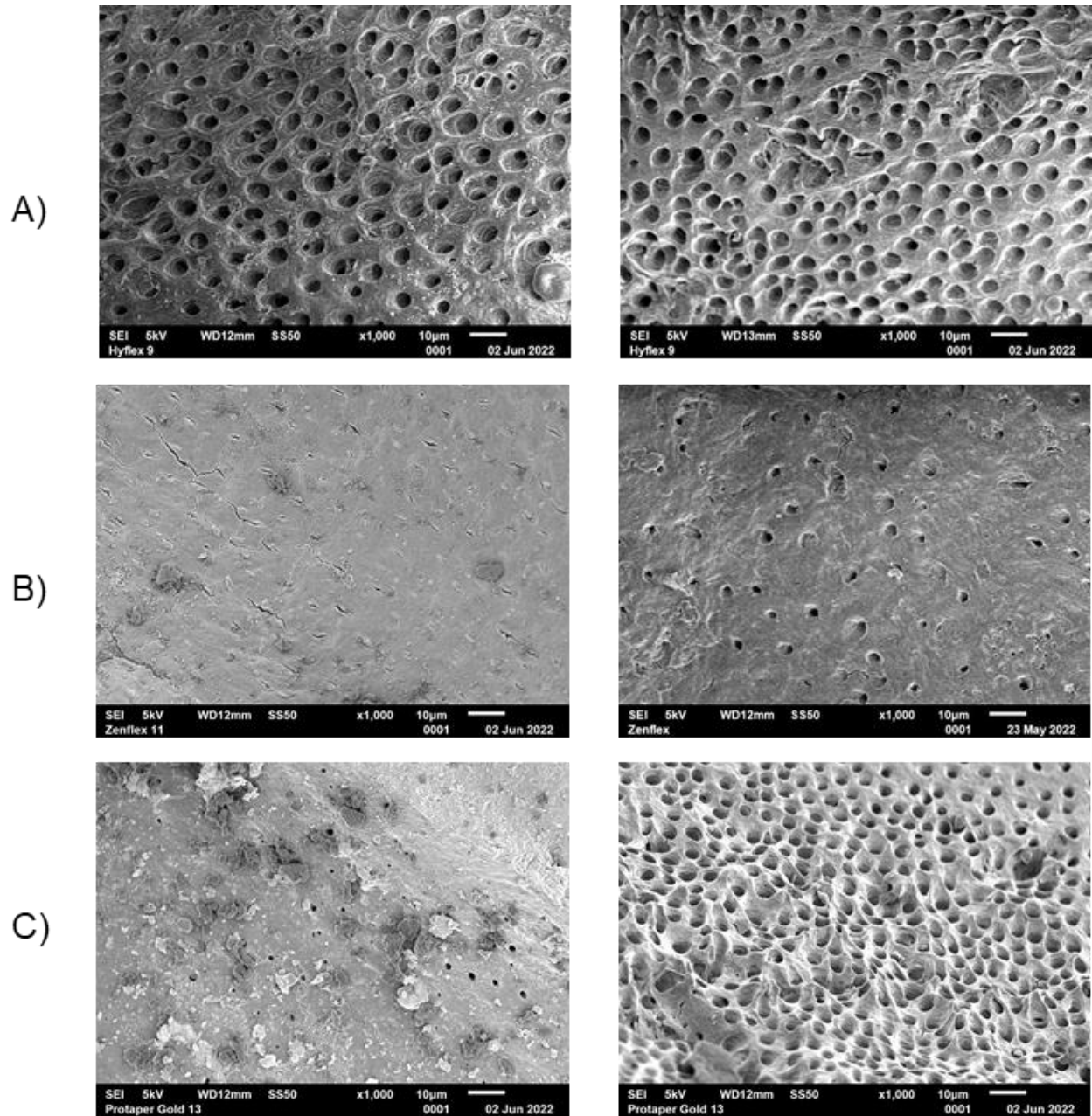
Comparación entre grupos experimentales; observación al MEB del tercio apical



Imágen 18. al MEB Comparación de grupos experimentales. A) Magnificaciones a 200x. B) Magnificaciones a 400x. C) Magnificaciones a 1000x. D) Magnificaciones a 2000x.

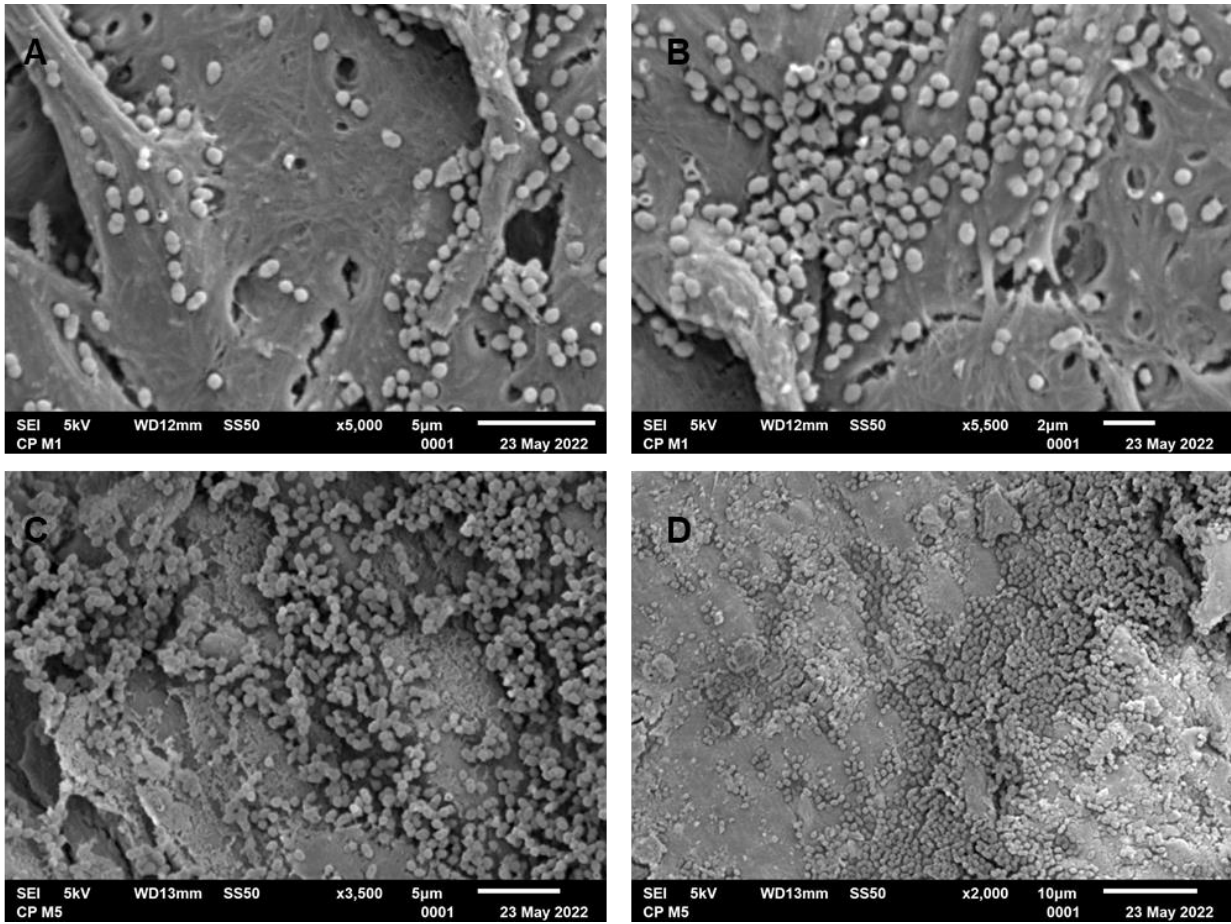
Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Observación al MEB de Hyflex™ EDM, Zenflex™ y Protaper Gold™ en tercio apical a 1000x



Imágen 19. Observaciones al MEB a 1000x. A) Sistema Hyflex™ EDM. B) Sistema Zenflex™. C) Sistema Protaper Gold™.

Grupo Control positivo; observación al MEB del tercio apical



Imágen 20. Biofilm maduro de 30 días de *E. faecalis*. Magnificaciones a: A) 5,000x. B) 5,500x. C) 3,500x y D) 2,000x. Presencia de *E. faecalis* y matriz de polímeros extracelulares.

Grupo Control negativo; observación al MEB del tercio apical

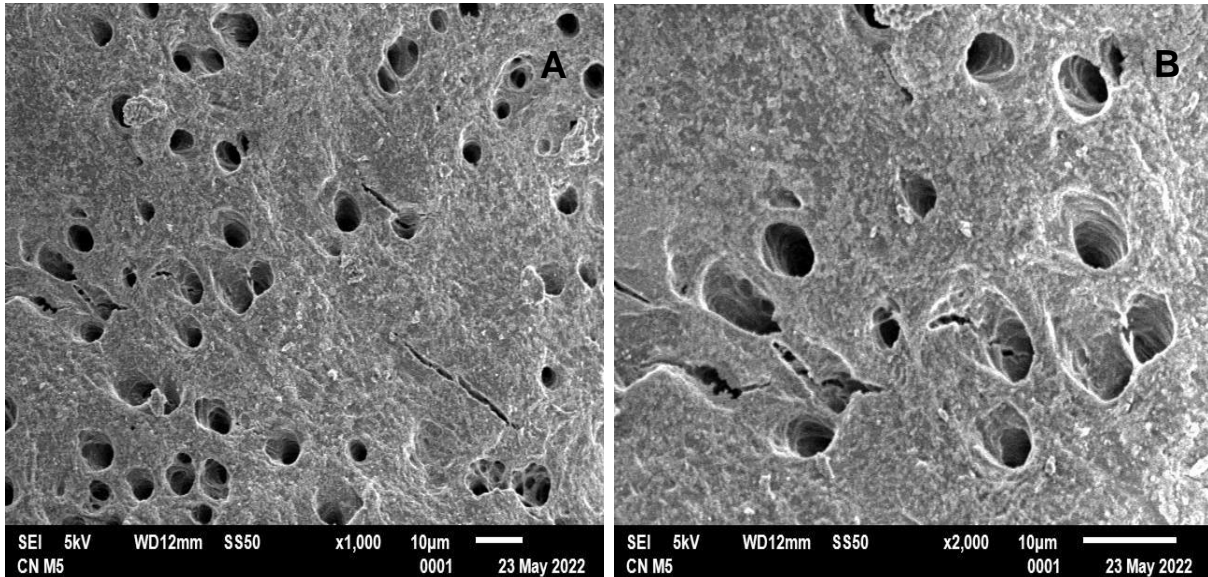


Imagen 21. Grupo control negativo. A) 1000x y B) 2000x. Se observan túbulos 75% permeables y ausencia de contaminación bacteriana.

Evaluación de la limpieza del tercio apical mediante MEB

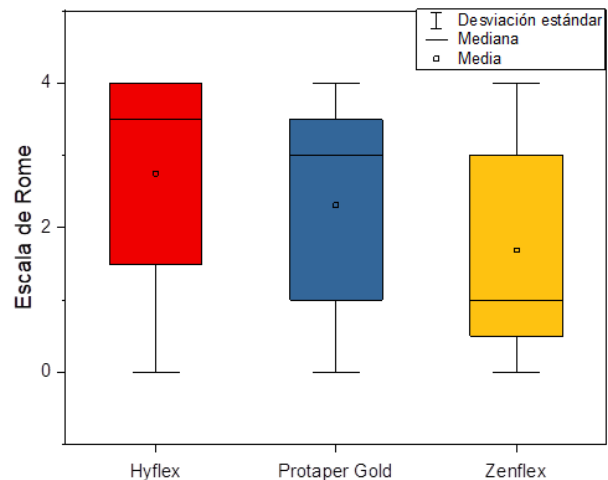
Las muestras fueron evaluadas doble ciego bajo la siguiente escala modificada en base a la escala de Rome y cols.

0	0% de túbulos abiertos
1	25% de túbulos abiertos
2	50% de túbulos abiertos
3	75% de túbulos abiertos
4	100% de túbulos abiertos

Grupo 1 Hyflex EDM	
Escala	Conteo
0	2
1	0
2	0
3	2
4	4
Total	8

Grupo 3 Protaper Gold	
Escala	Conteo
0	1
1	1
2	2
3	2
4	2
Total	8

Grupo 2 ZenFlex	
Escala	Conteo
0	2
1	3
2	0
3	1
4	2
Total	8



Gráfica 7. Comparación de grupos para el grado de limpieza del tercio apical

8. DISCUSIÓN

El éxito del tratamiento endodóntico depende de una conformación que permita la obturación adecuada del sistema de conductos radiculares; así como la eliminación de bacterias y sus productos. Debido a que la enfermedad pulpar y su secuela que es la patología periapical son de origen bacteriano, su eliminación debe resaltar el uso de instrumentos que faciliten la erradicación de bacterias y la conformación del conducto radicular. (19,33,46,47)

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de un nuevo sistema de instrumentación rotatoria, Zenflex™ en comparación con dos Hyflex™ EDM y Protaper Gold™ en raíces de premolares unirradiculares inoculados con *E. faecalis*.

Para evaluar la reducción bacteriana se realizó conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) expresada en Log10 UFC/mL. Con la finalidad de evaluar la desinfección de los tres sistemas de instrumentación y cuantificar las bacterias que quedaron dentro del conducto radicular. Esta metodología es utilizada frecuentemente^(1,48-55) y es útil para reflejar la capacidad de reducción bacteriana de instrumentos endodónticos. No obstante, este método tiene la desventaja de no permitir la evaluación de la presencia de bacterias dentro de los túbulos dentinarios o la eliminación de biofilm.

Para lo cual, este estudio fue complementado con la observación al microscopio electrónico de barrido con la finalidad de evaluar el grado de limpieza del conducto radicular, observando la exposición de túbulos dentinarios, la presencia de lodo dentinario y bacterias. La observación al microscopio electrónico de barrido ofrece una visión más amplia y una imagen detallada de la superficie de las muestras utilizando diferentes magnificaciones. En el presente estudio las muestras fueron observadas a 200X, 400X, 1000X Y 2000X para visualizar el tercio apical del conducto radicular.

El sistema Zenflex™ evaluado por primera vez en este estudio consiste en una secuencia de instrumentación gradual de la lima #20 a la lima #45, fue utilizado con conicidad .06 para mayor similitud con los sistemas comparados. Los datos obtenidos

señalan que es el grupo con resultados mayormente consistentes y una desviación estándar menor. Sin embargo, estadísticamente no hay diferencia en la reducción bacteriana de los tres grupos.

El uso de los tres sistemas de instrumentación logró una reducción bacteriana significativa; sin embargo, ninguno de los tres sistemas logró una eliminación total de microorganismos.

Ureyen y cols. en 2019 ⁽³³⁾ realizaron un estudio donde compararon la reducción bacteriana lograda por WaveOne Gold, Hyflex EDM y XP-endo Shaper en conductos infectados con *Enterococcus faecalis*. Los autores observaron muestras al microscopio electrónico de barrido para observar la permeabilidad de los túbulos dentinarios. Los resultados mostraron una disminución significativa en comparación con los datos pre-instrumentación, aunque todos los especímenes tenían crecimiento bacteriano. La reducción bacteriana encontrada fue del 58.6 % para WaveOne Gold, del 89.2 % para Hyflex EDM y del 86.74 % para XP-endo Shaper.

Nakumara y cols. ⁽⁵⁰⁾ realizaron un estudio para comparar la disminución de carga bacteriana comparando el uso de instrumentación manual, rotatoria y recíproca utilizando como irrigante hipoclorito de sodio al 2.25%. Los resultados obtenidos mostraron una disminución post-instrumentación significativamente mayor en comparación con las muestras pre-instrumentación; sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los tres grupos. Ninguna técnica eliminó el total de bacterias en el conducto radicular.

Rodríguez y cols. ⁽⁷⁾ realizaron un estudio para evaluar si el tamaño de la preparación apical influye en la reducción bacteriana. Concluye que cuanto mayor es la preparación apical, más bacterias podrán ser eliminadas ya que el conducto en el tercio apical se ensancha y por tanto la pared del conducto radicular lo hace también, eliminando irregularidades anatómicas, capa de biopelícula adherida a la pared de la dentina así como dentina infectada ^(7,33). Esto pudo confirmarse en este estudio dado que el sistema Zenflex obtuvo un menor número de muestras con desarrollo bacteriano, así como un mayor logaritmo de reducción en la comparación de las medias de los grupos.

Aunque el tamaño de preparación final de Zenflex™ fue mayor que el de Hyflex™ EDM y Protaper Gold™ no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la reducción bacteriana y limpieza del tercio apical de los tres grupos.

Los instrumentos con diferentes diámetros y conicidades no se asociaron con diferencias significativas al igual que se observó en otros estudios realizados. (53,54,56)

Machado y cols. (54) realizaron un estudio donde compararon la reducción bacteriana comparando tres grupos de conicidades diferentes (grupo 1 instrumentado hasta una lima Protaper Next X1 de 25/.06, grupo 2 con Twisted File hasta una lima 25/.08, grupo 3 Protaper Universal hasta una lima 25/.08 y grupo 4 hasta una lima manual #35). Los resultados mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tres sistemas rotatorios con la técnica manual para la reducción bacteriana. Concluyendo que todos los instrumentos reducen la carga bacteriana.

Los resultados de este estudio revelaron que no hubo una diferencia estadísticamente significativa en la capacidad de limpieza y reducción bacteriana entre los sistemas de instrumentación utilizados por lo que la hipótesis de investigación fue rechazada y la hipótesis alterna 2 fue aceptada.

El uso de sistemas de instrumentación NiTi con limas múltiples o secuencia de diferente diámetro y conicidad permite la conformación gradual del conducto radicular de una forma segura incluso en casos de conductos curvos y estrechos. Estudios comparan y comprueban la capacidad de resistencia a la fatiga cíclica y las propiedades mecánicas del sistema Hyflex™ EDM y Protaper Gold™, sistemas que son ampliamente aceptados en el mercado; sin embargo, no han sido estudiados en su capacidad de limpieza y reducción bacteriana. En el presente estudio el nuevo sistema de instrumentación Zenflex™ demostró que es tan efectivo como Hyflex™ EDM y Protaper Gold™; lo cual representa un nuevo sistema que ofrece una secuencia de conformación gradual segura que puede ser empleado para una limpieza y desinfección adecuada del sistema de conductos radiculares.

9. CONCLUSIÓN

El nuevo sistema Zenflex™ mostró una reducción en la carga bacteriana significativa; sin embargo, no hubo diferencia respecto a Hyflex™ EDM y Protaper Gold™; en cuanto a la limpieza los tres grupos mostraron el mismo comportamiento al limpiar el sistema de conductos radiculares obteniendo entre el 75 y el 100% de los túbulos dentinarios permeables.

Se puede concluir que este sistema demostró ser tan efectivo como Hyflex™ EDM y Protaper Gold™ en la limpieza y reducción bacteriana; sistemas ya presentes en el mercado.

PERSPECTIVAS

1. Evaluación de la limpieza con un mayor número de muestras observadas al microscopio electrónico de barrido.
2. Evaluación de la limpieza y reducción bacteriana en conductos radiculares con curvatura mayor a 35°.
3. Evaluación de la reducción bacteriana del sistema de instrumentación Zenflex utilizando agua destilada como irrigante.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bortoluzzi EA, Carlon D, Meghil MM, El-Awady AR, Niu L, Bergeron BE, et al. Efficacy of 3D conforming nickel titanium rotary instruments in eliminating canal wall bacteria from oval-shaped root canals. J Dent [Internet]. 2015;43(5):597–604. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2015.01.001>
2. Tomson PL, Simon SR. Contemporary cleaning and shaping. Prim Dent J. 2016;5(2):46–53.
3. Berber VB, Gomes BPF, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CCR, Zaia AA, et al. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10–7.
4. Neelakantan P, Ahmed HMA, Chang JWW, Nabhan MS, Wei X, Cheung GSP, et al. Effect of instrumentation systems on endotoxin reduction from root canal systems: A systematic review of clinical studies and meta-analysis. Aust Endod J. 2019;45(3):407–13.
5. Yoo Y-J, Perinpanayagam H, Oh S, Kim A-R, Han S-H, Kum K-Y. Endodontic biofilms: contemporary and future treatment options. Restor Dent Endod. 2019;44(1):1–10.
6. Cavalli D, Toia CC, Flores Orozco EI, Khoury RD, Cardoso FG da R, Alves MC, et al. Effectiveness in the Removal of Endotoxins and Microbiological Profile in Primary Endodontic Infections Using 3 Different Instrumentation Systems: A Randomized Clinical Study. J Endod. 2017;43(8):1237–45.
7. Rodrigues RCV, Zandi H, Kristoffersen AK, Enersen M, Mdala I, Ørstavik D, et al. Influence of the Apical Preparation Size and the Irrigant Type on Bacterial Reduction in Root Canal-treated Teeth with Apical Periodontitis. J Endod. 2017;43(7):1058–63.
8. Neves MAS, Provenzano JC, Fonseca SCL, Rodrigues RCV, Gonçalves LS,

- Siqueira JF, et al. Disinfection and outcome of root canal treatment using single-file or multife systems and ca(OH)₂ medication. Braz Dent J. 2020;31(5):493–8.
9. Amaral RR, Guimarães Oliveira AG, Braga T, Reher P, de Macêdo Farias L, Magalhães PP, et al. Quantitative Assessment of the Efficacy of Two Different Single-file Systems in Reducing the Bacterial load in Oval-Shaped Canals: A Clinical Study. J Endod [Internet]. 2020;46(9):1228–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.007>
 10. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. Arch Microbiol. 2018;200(4):525–40.
 11. Siqueira JF, Rôçac IN. Critical review in oral biology and Medicine: Diversity of endodontic microbiota revisited. J Dent Res. 2009;88(11):969–81.
 12. Silva Herzog Flores D, Oliva R, Ramos Núñez PC. Mecanismo de presentación antigénica en el tejido pulpar. Rev la Asoc Dent Mex. 2005;62(4):125–31.
 13. Gide A. Microbiología oral. Angewandte Chemie International Edition, 6(11), 951–952. 1967.
 14. Jhajharia K, Mehta L, Parolia A, Shetty Kv. Biofilm in endodontics: A review. J Int Soc Prev Community Dent. 2015;5(1):1.
 15. Tennert C, Fuhrmann M, Wittmer A, Karygianni L, Altenburger MJ, Pelz K, et al. New bacterial composition in primary and persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. J Endod. 2014;40(5):670–7.
 16. Korona-Glowniak I, Piatek D, Fornal E, Lukowiak A, Gerasymchuk Y, Kedziora A, et al. Patterns of oral microbiota in patients with apical periodontitis. J Clin Med. 2021;10(12):1–14.
 17. Nascimento WM, Limoeiro AG da S, Moraes MM, Campos DDL, Drumond JP, Maeda W, et al. Reduction in *Enterococcus faecalis* counts produced by three file systems in severely curved canals. Res Soc Dev.

2021;10(2):e58910212956.

18. Spångberg ELSW, Jr JFS, Rôças IN. Community as the unit of pathogenicity : An emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. YMOE. 2009;107(6):870–8.
19. Rôças IN, Provenzano JC, Neves MAS, Siqueira JF. Disinfecting Effects of Rotary Instrumentation with Either 2.5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine as the Main Irrigant: A Randomized Clinical Study. J Endod. 2016;42(6):943–7.
20. Sirvent Encinas F, García Barbero E. Revisión bibliográfica Biofilm. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia. Endo do ncia. 2010;28(4):241–56.
21. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. J Endod. 1975;1(7):238–42.
22. Al Shehadat S. Smear layer in endodontics: role and management. J Clin Dent Oral Heal. 2017;01(01).
23. Haapasalo M, Qian WEI, Shen YA. Irrigation Beyoid the Smear Layer.Pdf. Endod Top. 2013;(i):35–53.
24. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. Enterococcus faecalis: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod. 2006;32(2):93–8.
25. Otero D, Selvaraju SB, Kathpalia A, Elmallah W, Elbatouty K, Nagy MM. Evaluation of Bacterial Reduction after Root Canal Shaping Using ProTaper Gold and WaveOne Gold Rotary Systems. Eur J Gen Dent. 2021;10(02):73–7.
26. Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Recovery of Enterococcus faecalis after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. Int Endod J. 2005;38(10):697–704.
27. Yang Q, Shen Y, Huang D, Zhou X, Gao Y, Haapasalo M. Evaluation of Two

- Trephine Techniques for Removal of Fractured Rotary Nickel-titanium Instruments from Root Canals. J Endod [Internet]. 2017;43(1):116–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2016.09.001>
28. Abuhaimed TS, Neel EAA. Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. Biomed Res Int. 2017;2017.
 29. Küçükkaya Eren S, Uzunoğlu-Özyürek E, Karahan S. Influence of reciprocating and rotary instrumentation on microbial reduction: a systematic review and meta-analysis of in vitro studies . Restor Dent Endod. 2021;46(2):1–12.
 30. Haapasalo M, Shen Y. Evolution of nickel-titanium instruments: from past to future. Endod Top. 2013;29(1):3–17.
 31. Denisse CDC, Contreras C. “ EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE REDUCCIÓN BACTERIANA Y LIMPIEZA DE SISTEMAS DE LIMA ÚNICA WAVE ONE GOLD Y RECIPROC Vs . UN SISTEMA MÚLTIPLE TFA , FRENTE UN BIOFILM. 2017;
 32. Uslu G, Özyürek T, Yılmaz K, Gündoğar M, Plotino G. Apically Extruded Debris during Root Canal Instrumentation with Reciproc Blue, HyFlex EDM, and XP-endo Shaper Nickel-titanium Files. J Endod. 2018;44(5):856–9.
 33. Üreyen Kaya B, Erik CE, Sesli Çetin E, Köle M, Maden M. Mechanical reduction in intracanal *Enterococcus faecalis* when using three different single-file systems: an ex vivo comparative study. Int Endod J. 2019;52(1):77–85.
 34. Rotary N, File S. Maximum Strength. Minimally Invasive. Available from: <https://www.kerrdental.com/es-mx/productos-para-endodoncia/zenflex-conformacion-endodontica>
 35. Information G, Motion CR. ZenFlex™ Rotary Files Instructions for Use ADVERSE EVENTS STEP-BY-STEP INSTRUCTIONS TABLE 1 . TORQUE AND SPEED RECOMMENDATIONS FOR ZENFLEX™ IN CONTINUOUS ROTARY MOTION * INDICATIONS FOR USE. 2021;1–2.
 36. It ENDE, Es FR. Technique Card. Available from:

<https://www.dentalproductsreport.com/view/kerr-s-new-zenflex-niti-rotary-shaping-file-delivers-high-cutting-efficiency-minimally-invasive-design>

37. Edm H. HyFlex™ EDM. :5–6.
38. Singh H. Hyflex CM and EDM Files: Revolutionizing the Art and Science of Endodontics. J Dent Heal Oral Disord Ther. 2016;5(7):385–7.
39. Walter M, Ag U, Einsatz E, Bedarf AA, Walter M, Ag U, et al. HyFlex™ EDM NiTi Root Canal Instruments HyFlex™ EDM NiTi Root Canal Instruments.
40. Coltene®. HyFlex CM & EDM. Available from:
<https://www.coltene.com/pim/DOC/BRO/docbro6849-03-18-es-hyflex-cm-edm-a4sesaindv1.pdf>
41. Hieawy A, Haapasalo M, Zhou H, Wang ZJ, Shen Y. Phase Transformation Behavior and Resistance to Bending and Cyclic Fatigue of ProTaper Gold and ProTaper Universal Instruments. J Endod. 2015;41(7):1134–8.
42. Use DFOR. Protaper gold. 2017;2017:1–7.
43. Use DFOR. Protaper gold. 2017;1–7.
44. Rome WJ, Doran JE, Walker WA. The effectiveness of Gly-Oxide and sodium hypochlorite in preventing smear layer formation. J Endod. 1985;11(7):281–8.
45. Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro Infection and Disinfection of Dentinal Tubules. J Dent Res. 1987;66(8):1375–9.
46. Neves MAS, Provenzano JC, Rôças IN, Siqueira JF. Clinical Antibacterial Effectiveness of Root Canal Preparation with Reciprocating Single-instrument or Continuously Rotating Multi-instrument Systems. J Endod. 2016;42(1):25–9.
47. Siddique R, Nivedhitha MS, Ranjan M, Jacob B, Solete P. Comparison of antibacterial effectiveness of three rotary file system with different geometry in infected root canals before and after instrumentation—a double-blinded randomized controlled clinical trial. BDJ Open. 2020;6(1).
48. Tewari RK, Ali S, Mishra SK, Kumar A, Andrabi SMUN, Zoya A, et al.

- Mechanical reduction of the intracanal *Enterococcus faecalis* population by Hyflex CM, K3XF, ProTaper Next, and two manual instrument systems: an *in vitro* comparative study. *J Investig Clin Dent*. 2016;7(2):168–73.
49. Ferrer-Luque CM, Bejarano I, Ruiz-Linares M, Baca P. Reduction in *Enterococcus faecalis* counts - A comparison between rotary and reciprocating systems. *Int Endod J*. 2014;47(4):380–6.
 50. Nakamura VC, Candeiro GT de M, Cai S, Gavini G. Ex vivo evaluation of three instrumentation techniques on *E. faecalis* biofilm within oval shaped root canals. *Braz Oral Res*. 2015;29(1):1–7.
 51. Martinho FC, Gomes APM, Fernandes AMM, Ferreira NS, Endo MS, Freitas LF, et al. Clinical comparison of the effectiveness of single-file reciprocating systems and rotary systems for removal of endotoxins and cultivable bacteria from primarily infected root canals. *J Endod*. 2014;40(5):625–9.
 52. Basmaci F, Öztan MD, Kiyam M. Ex vivo evaluation of various instrumentation techniques and irrigants in reducing *E. faecalis* within root canals. *Int Endod J*. 2013;46(9):823–30.
 53. Machado MEL, Nabeshima CK, Leonardo MFP, Reis FAS, Britto MLB, Cai S. Influence of reciprocating single-file and rotary instrumentation on bacterial reduction on infected root canals. *Int Endod J*. 2013;46(11):1083–7.
 54. Machado ME de L, Nabeshima CK, Caballero-Flores H, Elmadjian-Filho M, Duarte MAH, Odinola-Zapata R, et al. Instrument design may influence bacterial reduction during root canal preparation. *Braz Dent J*. 2017;28(5):587–91.
 55. Krokidis A, Bonfanti C, Cerutti A, Barabanti N, Zinelis S, Panopoulos P. Comparative analysis of SAF, Protaper Next and BT-Race in eliminating *Enterococcus faecalis* from long oval canals: An ex vivo study. *Aust Endod J*. 2017;43(3):110–4.
 56. Guillén RE, Nabeshima CK, Caballero-Flores H, Cayón MR, Mercadé M, Cai S,

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

et al. Evaluation of the WaveOne Gold and One Shape New Generation in reducing *Enterococcus faecalis* from root canal. Braz Dent J. 2018;29(3): 249–53.

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Figura 1. Secuencia de limas Zenflex, conicidad y longitudes disponibles. 14
 Figura 2. Blíster de 6 limas del sistema de instrumentación Zenflex..... 14
 Figura 3. Efecto de memoria controlada ayuda a que la lima conserve la forma del conducto incluso cuando está fuera de él..... 16
 Figura 4. Secuencias sugeridas para el uso del sistema Hyflex EDM, dependiendo la curvatura del conducto que se esté tratando. 18
 Figura 5. Sección transversal de Protaper Gold: triangular convexa 19

Imágen 1. Radiografías digitales tomadas en sentido mesio-distal y vestíbulo-lingual para confirmar presencia de un conducto recto..... 33
 Imágen 2. Proceso de preparación de muestras. a) y b) Estandarización de muestras con disco de diamante a 14 mm. c) permeabilización de conductos con lima K #10. d) Protocolo de limpieza en ultrasonido según el protocolo de Haapasalo y cols. e) Colocación de muestras en grupos de 5 piezas para ser llevados a esterilización por 15 min a 121°C. 33
 Imágen 3. Tinción gram de *E. faecalis* libre de contaminación 34
 Imágen 4. a) Inoculación de solución 0.5 de McFarland de *E. faecalis* en tubos con medio de cultivo BHI. b) Introducción de las raíces a los tubos ya inoculados. c) Tubos con el primer grupo de estudio que fueron llevados a incubación para la formación de biofilm estático de 30 días..... 36
 Imágen 5. a) Aislamiento absoluto. b) Desinfección del campo operatorio con peróxido de hidrogeno al 30%, hipoclorito de sodio al 5.25% y tiosulfato de Sodio al 10% por 1 minuto cada uno. c) Toma de muestra en agar sangre para confirmar que estuviera libre de contaminación..... 37
 Imágen 6. A) y B) Aislamiento absoluto de las piezas con dique de goma y grapa y toma de muestra de campo operatorio para confirmar la descontaminación del campo. C) Toma de muestra pre-instrumentación con 2 puntas de papel (1min cada una). D) Instrumentación de las piezas de acuerdo a las instrucciones de cada fabricante. E) Irrigación entre cada instrumento con hipoclorito de sodio al 2.25% y una irrigación final con 2ml de hipoclorito de sodio al 2.25%, 2 ml de solución salina, EDTA al 17% por 1 min y 2 ml de solución salina. F) Toma de muestra post-instrumentación con 2 puntas de papel (1min cada una). G, H e I) Diluciones seriadas y siembra en agar BHI. J) Conteo de UFC..... 41
 Imágen 7. A) Muestras pre y post-instrumentación puestas a incubación durante 24 h a 35±2°C. B) Evaluación de la concentración bacteriana mediante escala de McFarland. C) Diluciones y siembra en placas de agar BHI, puestas a incubadora 24 h. D) Conteo de UFC. 42
 Imágen 8. Preparación de muestras para observación al MEB. A) Corte longitudinal. B) Fijación C) Deshidratación en alcoholes D) Secado al punto crítico. E) Baño de oro. F) Observación al MEB. 43
 Imágen 9. Resultado de la siembra en agar BHI pre y post-instrumentación del grupo 1. En la primera columna se observan los tubos para evaluación con la escala de McFarland, segunda columna muestras pre-instrumentación y tercera columna muestras post-instrumentación. 57
 Imágen 10. Resultado de la siembra en agar BHI pre y post-instrumentación del grupo 2. En la primera columna se observan los tubos para evaluación con la escala de McFarland, segunda columna muestras pre-instrumentación y tercera columna muestras post-instrumentación. 58
 Imágen 11. Resultado de la siembra en agar BHI pre y post-instrumentación del grupo 3. En la primera columna se observan los tubos para evaluación con la escala de McFarland, segunda columna muestras pre-instrumentación y tercera columna muestras post-instrumentación. 59

Evaluación de la capacidad de limpieza y reducción bacteriana de *Enterococcus faecalis* intraconducto del sistema de instrumentación ZenFlex™ en comparación con Hyflex™ EDM y Protaper Gold™. Estudio *in vitro*

Imagen 12. Observación al MEB del grupo 1 Hyflex™ EDM. A) Magnificación a 200x, 50% de túbulos permeables. B) Magnificación a 400x, 50% de túbulos permeables. C) Magnificación a 1000x, 75% de túbulos permeables. D) Magnificación a 2000x, 75% de túbulos permeables. 60

Imagen 13. Observación al MEB del grupo 2 ZenFlex™. A) Magnificación a 200x, 50% de túbulos permeables. B) Magnificación a 400x, 50% de túbulos permeables. C) Magnificación a 1000x, 50% de túbulos permeables. D) Magnificación a 2000x, 50% de túbulos permeables. 61

Imagen 14. Observación al MEB del grupo 3 Protaper Gold™. A) Magnificación a 200x, 25% de túbulos permeables. B) Magnificación a 400x, 50% de túbulos permeables. C) Magnificación a 1000x, 75% de túbulos permeables. D) Magnificación a 2000x, 75% de túbulos permeables. 62

Imagen 15. Túbulos 100% permeables. 63

Imagen 16. A) 0% de túbulos dentinarios permeables. B) 50% de túbulos dentinarios permeables.... 63

Imagen 17. A) 25% de túbulos permeables. B) 100% túbulos permeables. 64

Imagen 18. al MEB Comparación de grupos experimentales. A) Magnificaciones a 200x. B) Magnificaciones a 400x. C) Magnificaciones a 1000x. D) Magnificaciones a 2000x. 64

Imagen 19. Observaciones al MEB a 1000x. A) Sistema Hyflex™ EDM. B) Sistema Zenflex™. C) Sistema Protaper Gold™. 65

Imagen 20. Biofilm maduro de 30 días de *E. faecalis*. Magnificaciones a: A) 5,000x. B) 5,500x. C) 3,500x y D) 2,000x. Presencia de *E. faecalis* y matriz de polímeros extracelulares..... 66

Imagen 21. Grupo control negativo. A) 1000x y B) 2000x. Se observan túbulos 75% permeables y ausencia de contaminación bacteriana..... 67