



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
MAESTRÍA EN ENDODONCIA

**“Evaluación de la eliminación bacteriana y biofilm
por sistemas de instrumentación de lima única”**

AUTOR:

C.D. Fernando García Peña

DIRECTOR DE TESIS: Fernando Torres Méndez



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
MAESTRÍA EN ENDODONCIA

**“Evaluación de eliminación bacteriana y biofilm por
sistemas de instrumentación de lima única”**

C.D. FERNANDO GARCÍA PEÑA

Tesis presentada para optar por el título de Maestro en Endodoncia

Maestría en Endodoncia, UASLP, México, Todos los derechos reservados

DIRECTOR: Fernando Torres Méndez

CO-DIRECTOR: Claudia Edith Dávila Pérez

ASESOR: Norma Verónica Zavala Alonso

ASESOR: Ana María González Amaro

San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
MAESTRÍA EN ENDODONCIA

“Evaluación de eliminación bacteriana y biofilm por sistemas de instrumentación de lima única”

Tesis presentada para optar por el título de Maestro en Endodoncia

Maestría en Endodoncia, UASLP, México, Todos los derechos reservados

DIRECTOR: Fernando Torres Méndez.

Profesor – Investigador

Maestría en Endodoncia

Facultad de Estomatología, UASLP

CO-DIRECTOR Claudia Edith Dávila Pérez

Profesor – Investigador

Maestría en Endodoncia

Facultad de Estomatología, UASLP

ASESOR

Norma Verónica Zavala Alonso

Maestría en Ciencias Odontológicas

Profesor – Investigador

Facultad de Estomatología, UASLP

ASESOR

Ana María González Amaro

Profesor – Investigador

Maestría en Endodoncia

Facultad de Estomatología, UASLP



“Evaluación de eliminación bacteriana y biofilm por sistemas de instrumentación de lima única”

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.

PhD. Fernando Torres Méndez

PhD. Claudia Edith Dávila Pérez

PhD. Norma Verónica Zavala Alonso

MsC. Ana María González Amaro

San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.



“Evaluación de eliminación bacteriana y biofilm por sistemas de instrumentación de lima única”

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:

PhD. Rita Elizabeth Martínez Martínez.

Presidente

PhD. Ricardo Oliva Rodríguez.

Secretario

PhD. Fernando Torres Méndez.

Vocal

San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.



“Evaluación de eliminación bacteriana y biofilm por sistemas de instrumentación de lima única”

Dr. Ricardo Martínez Rider
Director de la Facultad de Estomatología

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

Dra. Yolanda Hernández Molinar
Jefe de la División de Posgrados de la Facultad de Estomatología

San Luis Potosí, San Luis Potosí, 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, José Fernando García Treviño y Martha Elena Peña Sosa por ser mi apoyo incondicional e impulsarme a superarme día a día, quienes siempre han creído en mí y han apoyado cada uno de mis proyectos y mis sueños viviré eternamente agradecido con ustedes.

A mi hermana Tania 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.

Dr. Fernando Torres por todos los conocimientos transmitidos, por brindarme su tiempo y total apoyo para la elaboración de este proyecto.

Dra. Claudia Dávila por el tiempo brindado a este proyecto, por todas sus aportaciones y su experiencia para enriquecer mi trabajo.

María José Martínez por toda tu paciencia, por ser esa persona que siempre ha creído en mí, cada paso que doy has estado conmigo en la buenas y en las malas, por siempre impulsarme y ser un equipo en estos dos largos años, estoy agradecido con la vida por ponerte en mi camino.

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

Dr. Ricardo Oliva y Dra. Rita Elizabeth por el tiempo, interés y participación en este proyecto.

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. Erika 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 compañeras **generación E-30** por formar parte de mi formación convirtiéndose en mis amigos y lograr juntos este gran sueño. Les deseo lo mejor.

ÍNDICE

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	6
1 MARCO TEÓRICO	7
1.1 Enfermedad pulpar.....	7
1.2 Importancia de la presencia de microorganismos en el conducto radicular	8
2 Biofilm en endodoncia	10
3 Antecedentes de sistemas de instrumentación	12
3.1 Técnicas de Instrumentación	14
3.2 Movimiento Reciprocante.....	16
3.3 Razones para utilizar una sola lima	17
3.4 Descripción de sistemas de instrumentación	19
3.4.1 Wave One® Gold.....	19
3.4.2 Reciproc® blue	22
3.4.3 Excalibur®	23
4 JUSTIFICACIÓN	25
4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	26
5 OBJETIVOS	26
5.1 Objetivo general	26
5.2 Objetivos específicos	26
6 HIPÓTESIS	27
7 METODOLOGÍA	28
7.1 Lugar de realización	28

7.2	Diseño de estudio	28
7.3	Tipo de estudio.....	28
7.4	Criterios de inclusión	28
7.5	Criterios de exclusión	28
7.6	Criterios de eliminación	28
7.7	Definición conceptual y operacional de las variables	29
7.7.1	Variables Independientes	29
7.7.2	Variables dependientes	29
7.8	Análisis estadístico.....	30
7.8.1	Número de muestra	30
8	CONSIDERACIONES ÉTICAS	32
9	FASE EXPERIMENTAL	33
9.1	Fase1: Preclínica	33
9.1.1	Selección y preparación de las muestras	33
9.1.2	Aleatorización de las piezas	33
9.1.3	Toma de radiografías.....	34
9.1.4	Preparación de piezas dentales.....	34
9.2	Fase 2: Microbiológica 1	35
9.2.1	Preparación de medios de cultivo y reactivación de cepas	35
9.2.2	Formación de biofilm de forma estática, cultivo de <i>E. Faecalis</i> e inoculación.	36
9.3	Fase 3: Instrumentación.....	37
9.3.1	Aislamiento y desinfección del campo operatorio.	37
9.3.2	Toma de muestra del cultivo pre-instrumentación	38

9.3.3	Instrumentación	39
9.3.4	Toma de muestra de cultivo post-instrumentación	40
9.4	Fase 4: Microbiológica II.	41
9.4.1	Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)	41
9.4.2	Observación al microscopio electrónico de barrido (MEB)	42
9.4.3	Observación del tercio apical mediante microscopia electrónica de barrido (MEB).....	43
10	RESULTADOS	45
10.1	Reducción de carga bacteriana	45
11	DISCUSIÓN	49
12	CONCLUSIONES	53
	PERSPECTIVAS	54
13	BIBLIOGRAFÍA	55

RESUMEN

Evaluación de eliminación bacteriana y biofilm por sistemas de instrumentación de lima única

Autor:

C.D. Fernando García Peña

Introducción: El objetivo del estudio fue evaluar los sistemas de instrumentación de lima única WaveOne® Gold, Reciproc® blue y Excalibur® en la eliminación del biofilm.

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 (WaveOne® Gold, Reciproc® blue y Excalibur®). 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. Posteriormente se prepararon las muestras para ser observadas al microscopio electrónico de barrido.

Resultados: Se presentó una disminución de carga bacteriana con los tres sistemas en las muestras post-instrumentación con una diferencia estadísticamente significativa al realizar prueba de ANOVA ($p < 0.05$). Con las pruebas post hoc de Tukey y Bonferroni se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), entre el sistema WaveOne® Gold y Excalibur®. No se determinó diferencia entre WaveOne® Gold y Reciproc® blue ($p > 0.05$). Se observó una disminución en el biofilm en las muestras post-instrumentación, con los tres sistemas.

Conclusiones:

El sistema de instrumentación WaveOne® Gold disminuye significativamente la carga bacteriana en comparación con el sistema Excalibur®, no habiendo diferencia significativa con el sistema Reciproc® blue. Con los tres sistemas se observó una disminución del biofilm.



“Evaluación de la eliminación bacteriana y biofilm por sistemas de instrumentación de lima única” by Fernando García Peña is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

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. 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.

La presencia de bacterias es la principal causa de infección periodontal y desarrollo de periodontitis apical. Entre las diversas bacterias encontradas en infecciones endodónticas, *Enterococcus faecalis* destaca por su resistencia, supervivencia en ambientes pobres en nutrientes y asociación con infecciones persistentes como la periodontitis apical. En la actualidad se emplean agentes químicos para la eliminación del *Enterococcus faecalis* y de biofilm, pero lamentablemente algunos agentes no son completamente eficaces contra todas las bacterias, además de ello el biofilm maduro es más resistente a la acción de los agentes antimicrobianos.

Por lo tanto, la remoción mecánica dada por la instrumentación es particularmente efectiva para romper el biofilm bacteriano reduciendo así la presencia de bacterias en el conducto radicular. Recientemente se ha propuesto la utilización de sistemas de lima única para la instrumentación de los conductos radiculares. Estudios previos han demostrado que el uso de sistemas de lima única ha dado como resultado conductos más limpios en el tercio apical.

En este sentido, diferentes casas comerciales han introducido al mercado nuevos instrumentos como lo son WaveOne® Gold, Reciproc® blue y Excalibur® por lo cual, resulta importante someterlos a investigación, permitiendo seleccionar aquel que

ofrezca mayores ventajas en cuanto a limpieza y desinfección de los conductos radiculares.

1 MARCO TEÓRICO

1.1 Enfermedad pulpar

La enfermedad pulpar es la respuesta de la pulpa ante la presencia de un irritante, a la que se adapta primero y en la medida de la necesidad se opone, organizándose para resolver favorablemente la leve lesión o disfunción ocurrida por la agresión. La pulpa dental se define como un tejido conectivo blando especializado, que se encuentra en el interior del diente específicamente en la parte central, de origen mesenquimatoso, que se encuentra entremezclado en forma abundante con vasos sanguíneos muy pequeños, vasos linfáticos, nervios mielinizados y no mielinizados, y células no diferenciadas de tejido conectivo. Igual que otros tejidos conectivos que se encuentran en el cuerpo, reacciona a la infección bacteriana u otros estímulos irritantes mediante una respuesta inflamatoria(1,2).

Las infecciones del sistema de conductos radiculares consisten usualmente de múltiples especies de organismos y las interacciones que producen subproductos de algunas bacterias contribuyen a una fuente de nutrientes para otras bacterias(3). Los microorganismos que buscan establecerse en el conducto radicular deben abandonar el entorno de la cavidad oral donde se han encontrado alrededor de 700 especies bacterianas(4), donde poseen ricos y diversos nutrientes; para invadir la dentina, producir una respuesta inmune en la pulpa y establecer un tejido necrótico restante dentro del conducto radicular. Por lo que tienen que competir en un espacio limitado con otros microorganismos por los nutrientes disponibles(5).

Las infecciones endodónticas primarias tienen su origen en los microorganismos presentes en la cavidad oral, los cuales usualmente son patógenos oportunistas que pueden invadir un conducto radicular, producen una respuesta en la pulpa, establecen un tejido necrótico y ahí se origina un proceso infeccioso(3). A causa de que los microorganismos pueden sobrevivir durante la preparación del conducto

radicular, el resultado a largo plazo del tratamiento de endodoncia es incierto, porque puede ser la causa principal de fracaso endodóntico(6).

Desde una perspectiva microbiológica, el conducto radicular está compuesto de nichos ecológicos con una variedad de factores ambientales que limitan el crecimiento de una especie en relación con los demás, los principales factores limitantes son los nichos del conducto radicular que influyen en la colonización bacteriana los cuales son: oxígeno y disponibilidad de nutrientes. Después del tratamiento de conductos, otros factores limitantes son el pH y los efectos a corto o largo plazo de los medicamentos intraconducto aplicados y la capacidad de los organismos para adaptarse a las condiciones existentes(7).

Existen microorganismos resistentes a la terapia endodóntica como es el *Enterococcus faecalis*, bacteria Gram positiva que se encuentra asociada generalmente a los casos de tratamientos fallidos en endodoncia, actualmente se sabe que esta bacteria es resistente a los métodos de preparación quimiomecánicos convencionales, estas técnicas de deben complementar con la irrigación de soluciones bactericidas(8)

1.2 Importancia de la presencia de microorganismos en el conducto radicular

La cavidad oral comprende un microbiota en diferentes hábitats como lo son dientes, surcos gingivales, encía adherida, labios, lengua, mejillas, paladar duro y paladar blando; existen alrededor de 700 a 800 especies orales comunes(9).

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 en 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(10).

En 1894, Willoughby D. Miller quien fue un odontólogo americano y el primer microbiólogo oral, desarrolló una serie de experimentos en él que reporta la teoría quimioparasitaria donde, los microorganismos cariogénicos utilizan el azúcar como sustrato produciendo ácido y desmineralizando el esmalte(11).

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(11).

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: *Streptococos* (28%), *Estafilococos* (15%), *Corynebacterium* (10-25%), Levaduras (12%), y otros. 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(12,13).

La composición del 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(12,14).

Tal es el caso de *Enterococcus faecalis*, es una bacteria Gram positiva que se encuentra asociada generalmente a los casos de tratamientos fallidos en endodoncia, actualmente se sabe que esta bacteria es resistente a los métodos de preparación quimiomecánicos convencionales(15), como tal la mayoría de estos microorganismos forman comunidades resistentes a la terapia endodóntica ya que se asocian en comunidades denominadas biofilm, estas se presentan en todos los ecosistemas donde hay presencia de microorganismos.

2 Biofilm en endodoncia

Un biofilm es una comunidad de microorganismos de una o varias especies, altamente organizada embebida en una matriz de polímeros extracelulares unida a una superficie sólida y rodeada por canales de comunicación que transportan nutrientes y eliminan el desecho (Figura 1)(16).

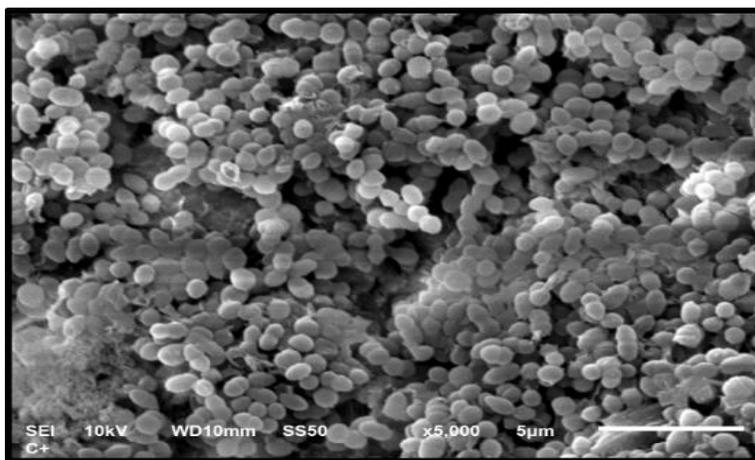


Figura 1. Biofilm de *Enterococcus Faecalis* poner imagen del experimental del control positivo

Chávez de Paz y cols. opinan que el biofilm no es raro ni infrecuente en el conducto necrótico, sino que es la forma de vida bacteriana más habitual, y que es incorrecto pensar que son entidades excepcionales solo porque sea reciente su conocimiento y estudio en endodoncia. Sin embargo, el proceso de formación del Biofilm en el conducto radicular es aún desconocido, a pesar de ello la teoría más aceptada consta de cuatro fases como se describe en la (Figura 2) y fue descrita por Svensäter y Bergenholtz.

1. En la 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.
2. En la segunda fase, se fijan algunas bacterias específicas con capacidad de adhesión, de todas las que están en suspensión.
3. En la tercera fase, la primera capa de bacterias ya adherida segrega mediadores que van fijando más bacterias, y, por otro lado, va formando la matriz extracelular de polímeros, como primera barrera defensiva característica del Biofilm.
4. En la cuarta y última 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.

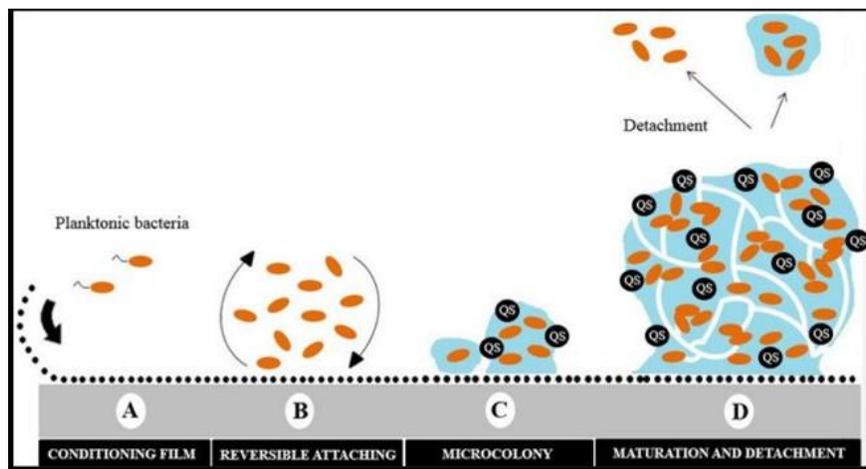


Figura 2. Esquema mostrando las etapas antes mencionadas para la formación del biofilm

Siqueira y Rôças exponen que, en esta etapa, el conjunto de biofilm puede consistir en 15% de bacterias y 85% de matriz de polímeros, además de contar con más de 300 capas de bacterias superpuestas. Dicha asociación bacteriana puede ser de una sola especie o de distintas especies. La primera de ellas se denomina autoagregación y la segunda coagregación. La autoagregación se define como la adherencia de las bacterias que pertenecen a la misma cepa, mientras que la coagregación bacteriana es un resultado de dos o más especies diferentes de microorganismos que interactúan para formar un compuesto agregado estable. La coagregación es altamente específica y se considera un factor de virulencia (17)

En estudios se ha señalado que *Enterococcus faecalis* es la especie que se detecta con mayor frecuencia en los dientes con tratamiento de endodoncia y por lo tanto promueven la persistencia de la enfermedad. *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad de adaptarse a los cambios ambientales bruscos, como pueden ser un pH alcalino extremo, resistencia los antimicrobianos y su crecimiento caracterizado por formar un biofilm. En algunos estudios se ha reportado la aparición de monocultivos de *Enterococcus faecalis* que ha hecho pensar que esta bacteria puede ser monoespecie en los conductos radiculares sin embargo las monoinfecciones rara vez ocurren en la naturaleza(18,19).

Uno de los objetivos de la terapia endodóntica es la eliminación y/o disgregación de estas comunidades para lograr el éxito del tratamiento, y esto se logra a través de la instrumentación biomecánica. Afinando una de las etapas más importantes del tratamiento de conductos como lo es la instrumentación.

3 Antecedentes de sistemas de instrumentación

En 1838, Edward Maynard, creó el primer instrumento endodóntico fabricado a partir de manecillas de reloj, el cual tenía como objetivo la preparación y limpieza de conductos radiculares. Posteriormente en 1883, se describieron las cuñas de madera embebidas en ácido carbólico para extirpar la pulpa, pero no fue hasta 1895 que pasaron a ser comercializadas. Y de esta manera, se inició el uso de instrumentos dentro de la cámara pulpar(20).

Sin embargo, ninguno de ellos poseía una estandarización e inicialmente en la fabricación de los instrumentos, no existían parámetros y criterios establecidos para su diseño y fabricación. Y el único parámetro del cual se partía era en el diámetro por lo que cada fabricante lo confeccionaba según sus necesidades. No fue hasta la década de los años 50's, donde se realizaron modificaciones a los instrumentos que fueron fabricados en acero al carbón. Lo que llevo a Ingle y Levine, en 1958, a plantear durante la segunda conferencia internacional en endodoncia en la Universidad de Pensilvania, la necesidad de una estandarización.

Con este acontecimiento y el reconocimiento de la AAE (American Association of Endodontics o Asociación Americana de Endodoncistas) en el año de 1962, la ADA (American Dentistry Association o Asociación Americana de Odontología) publicó en 1976 las normas que exigían la estandarización de los instrumentos endodónticos a ser comercializados (21).

Un parteaguas en el material utilizado para la fabricación de instrumentos se presentó en 1959, cuando Walliam J. Buehler descubre, en el Laboratorio de Artillería Naval de EE. UU., la aleación Níquel-Titanio: “metal con memoria”, el cual llamaron Nitinol, acrónimo de níquel (Ni), titanio (Ti) y laboratorio de artillería naval (nol). La aleación de NiTi utilizada en endodoncia contiene aproximadamente 56% en peso de níquel y 44% en peso de titanio, lo que lo hace casi equiatómica, pero no fue hasta 1988 que Harmeet Walia, William A. Brantley y Harold Gerstein, introducen al mercado instrumentos manuales de Níquel-Titanio, fabricados con alambre de ortodoncia (22,23).

En 1991 el Dr. John McSpadden, diseñó el primer instrumento rotatorio de NiTi con conicidad 0.02 (24). Poco tiempo después, en 1994 Ben Johnson introduce una línea de limas que se conoció como serie cónica ProFile 0.04, le siguieron las conicidades ProFile 0.06 y las “Formadoras de orificios”, el cual fue el primer sistema mecanizado que abogó por una técnica de corona hacia abajo pura (Dentsply Tulsa)(23).

En 1992 el Dr. Steve Senia y el Dr. William Wildey desarrollan las limas LightSpeed por LigthSpeed Endodontics. Y en 1996, el Dr. John McSpadden reaparece y desarrolla Quantec por SybronEndo, Dentsply no se queda atrás y en 1998 el Dr. Steve Buchanan, desarrolla Greater Taper(23,25).

El profesor Ghassan Yared, durante el 2007, describe una nueva técnica de preparación de conductos con solo un instrumento rotatorio de NiTi ProTaper F2 utilizado en un movimiento en sentido horario y antihorario. En ese mismo año Sportswire, desarrolló un procedimiento termomecánico denominado M-Wire, aumentando significativamente la flexibilidad y la resistencia a la fatiga cíclica del instrumento(26)

En términos de movimientos, Sybron Endo presentó, en el transcurso del 2013, una nueva tecnología de movimiento adaptativo que permite un movimiento rotatorio o recíprocante de la lima en función de las fuerzas de torsión intraconducto llamado TF Adaptive.

En el 2016, Coltene/Whaledent, presenta Hyflex EDM fabricado con CM Wire, y FKG Dentaire en 2018, introduce Max-Wire aleación termomecánica que combina el efecto de memoria y súper elasticidad en la aplicación clínica (27).

Por lo tanto, el objetivo principal de la terapia endodóntica es realizar la conformación y limpieza adecuadas del sistema de conductos radiculares utilizando instrumentos endodónticos y procedimientos de descontaminación eficaces en la cual son utilizados diversas técnicas de instrumentación que son esenciales para la limpieza de los conductos.

3.1 Técnicas de Instrumentación

Por lo tanto, el objetivo principal de la terapia endodóntica es realizar la conformación y limpieza adecuadas del sistema de conductos radiculares utilizando instrumentos endodónticos y procedimientos de descontaminación eficaces.

El Dr. Herbert Schilder en el año 1974, propone el concepto de que los sistemas de conductos radiculares se deben limpiar de remanentes orgánicos y preparar para

recibir una obturación hermética tridimensional en todo el espacio del conducto como se muestra en la (figura 3). La preparación biomecánica consiste en obtener un acceso directo y franco a la unión cemento- dentina - conducto, para una completa desinfección y perfecta obturación. La preparación biomecánica del conducto radicular es el conjunto de procedimientos clínicos que tienen como objetivo la limpieza, desinfección y conformación del conducto radicular(28)

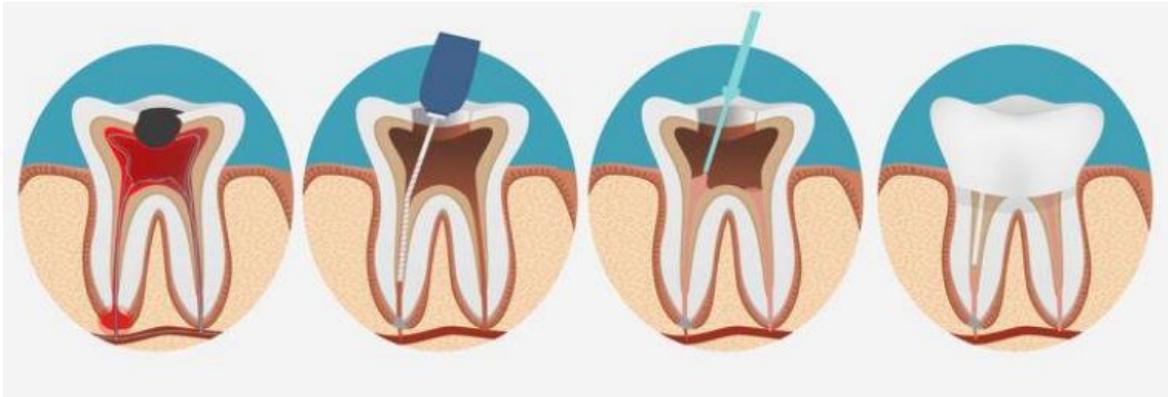


Figura 3. Representación del proceso endodóntico, pasando por los principios básicos, instrumentación, irrigación y obturación.

Existen muchas técnicas propuestas para la instrumentación manual de los conductos radiculares y algunos recurren al ensanchamiento de la zona media y coronal mediante el uso de instrumental rotatorio, mientras que el concepto manual se centra en la zona apical del conducto.

Durante algunos años la preparación de conductos radiculares en forma mecanizada fue un inconveniente ya que se suponía que estos instrumentos tenían que hacer los mismos movimientos que se conocían tracción/rotación. Algunos hechos importantes hicieron cambiar los conceptos como la propuesta que hacen Roane y cols, 1985. En esta técnica se propone un conjunto de movimientos recíprocos (horario/antihorario) con el objeto de lograr mantener el conducto radicular centrado, tratando que haya menos transportes apicales. Además, permitiendo abordar la porción apical de los conductos curvos y estrechos con instrumentos de calibre superior a los utilizados convencionalmente(29).

3.2 Movimiento Reciprocante

En los últimos años, los clínicos y fabricantes intentaron encontrar diferentes formas de reducir el riesgo de separación de los instrumentos endodónticos, haciendo que éstos sean más resistentes tanto al estrés por flexión como de torsión. Para alcanzar este objetivo, el desarrollo ha seguido principalmente tres formas diferentes: el cambio en el diseño de los instrumentos, los tratamientos térmicos de la aleación y el uso de diferentes tipos de movimientos(30).

Con relación a ello, la mayoría de los sistemas de NiTi disponibles en el mercado son accionados mecánicamente en rotación continua. Sin embargo, algunos sistemas de instrumentación son accionados con movimiento reciprocante, diseñados para cortar dentina y liberarse usando ángulos bidireccionales horario/antihorario (H/A) desiguales evitando así posibles fracturas(31), con este movimiento alternativo dio lugar al inicio de la cuarta generación de sistemas de instrumentación(23), el movimiento recíproco se ha utilizado ampliamente en sistemas de lima única y se ha demostrado que es más seguro para la preparación del conducto radicular de los conductos curvos al reducir la fatiga cíclica y torsional(32).

Por lo que el uso de la reciprocación mecanizada en endodoncia se introdujo en la década de 1960 con el sistema Giromatic (MicroMega, Besancon, Francia), seguido de otros como la pieza de mano M4 (Kerr Endodontics, Orange, Ca), NSK TEP-E10 R (Nakanishi Inc, Tokio, Japón) y el sistema Endo-Eze AET (Ultradent Products Inc, South Jordan, UT)(33).

Sin embargo, el movimiento alternativo, definido como cualquier movimiento repetitivo de ida y vuelta, el cual se lleva a cabo en ambas direcciones en sentido horario (H) y en sentido antihorario (AH), se ha utilizado clínicamente para conducir limas de acero inoxidable desde 1985 (33), ya que la curvatura del conducto siempre ha significado un elemento de complejidad para su preparación.

El concepto de fuerzas balanceadas (pequeños movimientos en sentido de las agujas del reloj y en sentido contrario) fue desarrollado por Roane en 1985 a lo largo

de un período de 12 años y fue propuesto como un medio para superar la influencia de la curvatura de los conductos radiculares(29). Utilizando la técnica de fuerzas balanceadas, es posible dar forma a los conductos curvos con el uso de instrumentos manuales de mayor diámetro(34).

Inicialmente todos los motores alternativos y piezas de mano relacionadas rotaban de manera fija en grandes ángulos, en sentido de las manecillas del reloj y sentido antihorario, con el tiempo, todos los sistemas alternativos en el mercado comenzaron a modificar el movimiento de los ángulos (5). En este tipo de movimiento los dos ángulos alternativos son iguales (H/AH) y generalmente menos de 90°. Este movimiento no da como resultado una rotación completa a diferencia del movimiento recíprocante en donde un ángulo de movimiento es más grande que el otro (H>AH o AH>H), lo que resulta en una serie de ciclos que finalmente hacen que el instrumento gire dentro del conducto(29).

Con el objetivo de encontrar un método más simple, conveniente y seguro de preparar exitosamente un conducto radicular, el Prof. Ghassan Yared realizó investigaciones y probó la técnica recíproca mecánica con instrumentos elaborados a base de níquel-titanio(35). En el año 2008 publicó un artículo clínico en el cual explicó cómo preparar el conducto radicular con una sola lima ProTaper F2, dicho instrumento está elaborado a base de Níquel Titanio, fue activado por un motor y utilizando la técnica recíproca (26,34), la cual se informó que aumenta la resistencia a la fatiga cíclica al exponer el instrumento a episodios de tensión más bajos que los que se presentan durante la rotación continua. El movimiento recíproco de estos sistemas NiTi alivia el estrés en el instrumento en sentido antihorario (acción de corte) y en sentido horario (liberación del instrumento), extendiendo así su durabilidad y aumentando su resistencia a la fatiga cíclica en comparación con los sistemas que utilizan movimiento de rotación continua(36).

3.3 Razones para utilizar una sola lima

En muchos países existe una verdadera preocupación por la posibilidad de que ocurra una contaminación cruzada entre pacientes con respecto a los instrumentos que se utilizan en conductos radiculares infectados.

Además, diversos estudios demuestran lo difícil que es limpiar, desinfectar y esterilizar los instrumentos utilizados en conductos radiculares. Por ejemplo, Aasim y col. en el año 2006 reportaron que es prácticamente imposible limpiar y esterilizar completamente las limas, aun cuando éstas sean previamente sometidas a un enjuague en una solución enzimática y a una limpieza ultrasónica(37).

Por lo que el fabricante recomienda el uso único de limas endodónticas basados en dos puntos: reducción de infección cruzada y daño al instrumento durante la preparación del conducto radicular.

En un estudio realizado por Buchanan y cols. en el año 2018, evalúan 401 limas endodónticas, reportando que después de los procesos de desinfección a los que son sometidos los instrumentos endodónticos, se encontró la presencia de debrís en un 94% de los instrumentos (38).

Otras desventajas de la reutilización de limas rotatorias de NiTi es una disminución no deseada de la resistencia a la torsión y a la fatiga cíclica debido a la rotación continua y las altas velocidades utilizadas para accionar estos instrumentos(30) ; la ciencia avanza y se han creado sistemas de instrumentación de un solo uso para evitar la fractura del instrumento por el uso excesivo. Se recomienda que las limas endodónticas sean de uso único, aproximadamente de 1 a 4 conductos radiculares, dependiendo del diente que se esté tratando, ya que esto las vuelve más seguras en conductos radiculares estrechos y curvos(39).

Estudios como el de Karamifar y col. en el 2020, demuestran que la reutilización de limas conduce al desgaste y a la propensión a la fractura después de cada uso. Se evaluaron limas XP-endo® Shaper, y reportaron que las micro fisuras comenzaron a aparecer después del segundo uso y se produjo corrosión galvánica después del tercer uso. Durante el cuarto uso, las micro fisuras se propagaron, lo que resultó en una fractura dúctil, mientras que en el grupo de WaveOne® Gold esto sucedió después del tercer uso. Demostrando que las limas a base de Níquel Titanio son más factibles a fracturarse después del uso repetido(40).

Además, cabe recalcar que la preparación del conducto radicular utilizando un solo instrumento de Ni-Ti simplifica el tratamiento de endodoncia, debido a que reduce el tiempo de instrumentación de manera considerable, ya que los sistemas de instrumentación de lima única implican menos tiempo de trabajo, ya que se reduce el número de instrumentos que se tienen que trabajar dentro del conducto radicular.

Por lo que la preparación del conducto radicular con instrumentos recíprocos de lima única a base de níquel-titanio (NiTi) tiene como objetivo hacer que el procedimiento de preparación del conducto radicular sea más fácil, más rápido y seguro en comparación con los sistemas rotatorios de múltiples limas convencionales(41).

En el futuro, los nuevos instrumentos deben cumplir los tres principios esenciales para la conformación de los conductos radiculares; la seguridad, eficacia y simplicidad. Siendo necesario investigaciones de los nuevos productos en el mercado para validar el rendimiento y los beneficios de cada sistema(23).

3.4 Descripción de sistemas de instrumentación

3.4.1 Wave One® Gold

Se introdujo al mercado un nuevo sistema de instrumentación recíproca por la casa comercial Dentsply, WaveOne® Gold, el fabricante sostiene que tras el perfeccionamiento de las propiedades termomecánicas del NiTi beneficiándose de los últimos avances tecnológicos que incluyen la tecnología “Gold”, por lo que este instrumento cuenta con características superiores a su antecesor (42).

Wave One® Gold está disponible en envases tipo blíster pre-esterilizados listos para su uso. El sistema incluye cuatro instrumentos: Small, Primary, Medium, y Large con anillos de identificación de colores en el mango, respectivamente, amarillo, rojo, verde y blanco. Con movimiento recíproco. Y las limas están disponibles en tres longitudes clásicas: 21, 25 y 31 mm. Además, tienen un mango corto de 11 mm para mejorar el acceso a los dientes posteriores. Así mismo, todas ellas disponen de conicidad variable en su porción activa para mejorar la flexibilidad y permitir una preparación más conservadora del sistema de conductos radiculares. Aunado a ello,

el sistema cuenta con movimiento reciproco con un giro de 150° en dirección antihoraria, que sirve para cortar dentina, luego la lima hace un giro de 30° en dirección horaria para liberar el instrumento. Y después de cada ciclo de corte AH/H, el movimiento neto de la lima es de 120° y luego de 3 ciclos de corte, por lo que la lima ha girado un total 360° (33).

En relación con los ángulos, se presentan en bidirección desigual que permiten a la lima avanzar de forma más segura y eficiente. Por lo que estratégicamente, los ángulos bidireccionales desiguales impulsan los residuos fuera del conducto de manera más eficaz en comparación con las limas que utilizan ángulos bidireccionales iguales. Por lo que WaveOne® Gold otorga al procedimiento endodóntico una metalurgia avanzada para la técnica de conformación de conductos radiculares con lima única. Y más allá, optimizan los diámetros de punta, las conicidades y la sección, para producir una lima que realmente aumenta la seguridad, la eficacia y la flexibilidad.

Wave One® Gold, presenta un corte transversal en forma de paralelogramo con aristas de 85° . Y la sección es rectangular para reducir la masa del instrumento y proporcionar espacio para liberar barrillo dentinario del conducto radicular. Además, esta sección cuadrangular deja libres uno o dos aristas cortantes para minimizar el estrés torsional del instrumento (Figura 4)(43).



Figura 4 Sección transversal en forma de paralelogramo de la lima WaveOne Gold®

Secuencia de trabajo

Lo primero que se realiza es una exploración de 2/3 coronales del conducto con una lima 8 y/o 10, posteriormente se realiza una vía de deslizamiento o Glide path con la lima Proglider (Maillefer) hasta esos 2/3 del conducto previamente explorados. Más tarde se debe elegir cuál de las 4 limas WaveOne® Gold se va a emplear;

- En el 80% de los casos es usada la lima Primary 25.07
- En conductos muy estrecho y/o curvos es indicada la lima Small 20.07
- Conductos amplios o cuando no se consigue calibración apical con lima Primary, se indica la lima Medium 35.06 o incluso la lima Large 45.05 para casos más acusados.

Una vez elegida la lima Wave One® Gold, se utiliza para trabajar esos 2/3 coronales previamente preparados con la Proglider, con eso se tendría preparado el tercio coronal y medio del conducto. A continuación, se permeabiliza el conducto hasta apical (una vez que ya se hayan eliminado todas las interferencias coronales), y se determina la longitud de trabajo. Posteriormente se realiza la vía de deslizamiento o Glidepath del conducto en toda su extensión con la lima Proglider. Y una vez que ya está el conducto perfectamente permeable y con vía de deslizamiento confirmada, se emplea la lima Wave One® Gold acorde al conducto y se instrumenta hasta apical.

El movimiento de la lima WaveOne® Gold debe ser: presionar tres veces para avanzar apicalmente, sacar el instrumento, limpiarlo, permeabilizar con la lima del 10 y volver a introducir la lima WaveOne® Gold elegida, volviendo a hacer tres presiones apicales, así hasta llegar a longitud de trabajo (Figura 5).



Figura 5. Secuencia de las limas Wave One® Gold

3.4.2 Reciproc® blue

VDW presentó Reciproc® blue en 2016, un instrumento universal y flexible para la mayoría de los casos, el cual está fabricado a base de un innovador tratamiento térmico, modificando su estructura molecular para darle mayor resistencia a la fatiga cíclica y flexibilidad adicional, así como su característico color azul (44).

Diseñado también para ser utilizado como instrumento único, VDW declara en su catálogo que Reciproc® blue solo requiere de un instrumento para la preparación del conducto, haciendo con uno, el trabajo de una secuencia de instrumentación manual o de sistemas de giro continuo. Alude también a que la conformación lograda por estos instrumentos promueve una irrigación y obturación más eficientes, tanto con técnicas en frío como termoplásticas.

El sistema está compuesto por tres instrumentos:

1. R25, con un diámetro de punta ISO 25 y una conicidad del 8%
2. R40, con un diámetro de punta ISO 40 y una conicidad del 6%
3. R50, con un diámetro de punta ISO 50 y una conicidad del 5%

La conicidad declarada corresponde solo a los 3 milímetros apicales, ya que esta es variable y regresiva en el instrumento. El instrumento tiene una sección transversal en forma de S (Figura 5). (38).



Figura 6. Secuencia de las limas Reciproc® blue

3.4.3 Excalibur®

La lima Excalibur®, un sistema de lima única reciprocante que cuenta con un tratamiento térmico gold de última generación y cuya principal característica es la ausencia de memoria de forma. Excalibur® presenta una conicidad reducida del 5%, convirtiéndose en el primer sistema reciprocante de lima única conservador, capaz de eliminar una menor cantidad de dentina en cada procedimiento, logrando una mayor preservación de la anatomía original y alcanzando la mayor eficacia de corte.

Las limas Excalibur® están indicadas para tratamientos endodónticos, conformando y limpiando conductos; y su superficie de corte está compuesta por una aleación de níquel-titanio.

El sistema Excalibur® está formado por una familia de cuatro instrumentos diferentes. De este modo, cada profesional puede elegir el que más se ajuste a sus necesidades clínicas diarias:

Lima Excalibur® Small: Cuenta con un taper del 5% y un diámetro de 0,20.

Lima Excalibur® Regular: En este caso, su MFD es de 1,00; dispone de un taper del 5% y su diámetro es de 0,25. Se usa en más del 85% de los casos.

Lima Excalibur® Medium: La lima Medium dispone de un MFD de 1,08 y un diámetro de 0,35. Y, al igual que las anteriores, su taper es del 5%.

Lima Excalibur® Large: Por último, la lima modelo Large presenta un MFD de 1,15; un taper del 5% y un diámetro de 0,45.

Además de estas características, las nuevas limas de Zarc4Endo pueden trabajar a una velocidad de entre 400-500 RPM y soportan hasta 150° de giro antihorario y 30° de giro horario. Están diseñadas con aleación *New Gold*, cuentan con sección “S” Itálica, tope de silicona, anillo de color y un mango de 11 mm(45).



Figura 7. Secuencia de las limas Excalibur®.

4 JUSTIFICACIÓN

El principal objetivo de la endodoncia es la reducción de microorganismos del sistema de conductos radiculares, evitando así complicaciones secundarias en el periápice como lo es la periodontitis apical, para lo cual la instrumentación mecánica es uno de los pasos más esenciales para el éxito de la terapia endodóntica,

El sistema de conductos presenta zonas complicadas de alcanzar, en las cuales se encuentran presentes distintos tipos de microorganismos; *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad de sobrevivir en ambientes con escasos nutrientes, siendo así uno de los que se encuentra con más frecuencia en infecciones endodónticas secundarias.

En la actualidad los nuevos instrumentos están siendo enfocados a la conservación máxima de la estructura anatómica del conducto, especialmente en la porción apical, poniendo así en controversia el tamaño óptimo de la ampliación apical del conducto radicular para asegurar la mayor eficiencia de limpieza.

Para ello, los sistemas de instrumentación basados en lima única han tomado gran importancia, debido a la disminución en el tiempo de trabajo y el estrés por parte del operador.

Excalibur[®], es un sistema de lima única recíprocante de reciente introducción en el mercado que presenta una conicidad reducida del 5%, teniendo así la relevancia de ser evaluada respecto a si dicha amplitud apical es suficiente para mejorar la limpieza del sistema de conductos radiculares, logrando así una mayor desinfección, por lo que se hace relevante evaluar su comportamiento en el interior del sistema de conductos radiculares y establecer si la reducción de dicha amplitud tiene ventajas con respecto a los sistemas existentes en el mercado.

4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Se presenta una menor carga bacteriana y remoción de biofilm en conductos radiculares al instrumentarlos con Excalibur® en comparación con WaveOne® Gold y Reciproc® blue?

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la eliminación bacteriana y de biofilm por los sistemas de instrumentación de lima única.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar la carga bacteriana pre-instrumentación mediante conteo unidades formadoras de colonias (UFC).
- Determinar la carga bacteriana post-instrumentación con el uso del sistema de instrumentación WaveOne® Gold, Reciproc® blue y Excalibur® mediante unidades formadoras de colonias (UFC).
- Comparar la disminución de la carga bacteriana post-instrumentación con los diferentes sistemas.
- Observar la presencia de biofilm en los conductos radiculares post-instrumentación con los diferentes sistemas.

6 HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación: Se presenta menor carga bacteriana con diferencia estadísticamente significativa en conductos radiculares instrumentando con el sistema Excalibur® en comparación con WaveOne® Gold y Reciproc® blue.

Hipótesis nula: No se presenta menor carga bacteriana con diferencia estadísticamente significativa en conductos radiculares instrumentando con el sistema Excalibur® en comparación con WaveOne® Gold y Reciproc® blue.

7 METODOLOGÍA

En esta sección, se describen a detalle la metodología experimental utilizada en el desarrollo de este trabajo.

7.1 Lugar de realización

- Preclínica de la Maestría de Endodoncia de la UASLP.
- Laboratorio de Microbiología de la Maestría de Endodoncia de la UASLP.

7.2 Diseño de estudio

- Analítico, transversal, prospectivo.

7.3 Tipo de estudio

- Experimental in vitro.

7.4 Criterios de inclusión

- Premolares con raíces rectas recién extraídos.
- Raíces rectas.
- Ápices maduros.

7.5 Criterios de exclusión

- Raíces de dos o más conductos.
- Dientes que presenten líneas de fisuras o caries radicular.
- Conductos calcificados u obliterados.

7.6 Criterios de eliminación

- Raíces con fractura de instrumento durante la preparación biomecánica.
- Muestras contaminadas.

7.7 Definición conceptual y operacional de las variables

7.7.1 Variables Independientes

Sistemas de Instrumentación

Definición conceptual: Sistemas rotatorios o manuales con el propósito de facilitar el procedimiento de la preparación del sistema radicular. Estos sistemas cuentan con diferentes ventajas como flexibilidad, conicidad, rigidez, movimientos rotatorios o reciprocantes con el fin de limpiar y conformar el conducto radicular.

Definición operacional: Se instrumentan los conductos con los diferentes sistemas de una sola lima de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Escala de medición: Categórica Nominal.

7.7.2 Variables dependientes

Carga 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 (10-3, 10-4 y 10-5) y alícuotas de 0.1 ml se siembran en agares y se incuban durante 24 horas a 37°C (con 5% de CO₂). 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.

7.8 Análisis estadístico

7.8.1 Número de muestra

El número de las muestras se estableció a partir de la siguiente fórmula, para la comparación de medias entre grupos.

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

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

$$N = 15.21 = 15$$

En base a lo anterior para este estudio se utilizaron 15 dientes unirradiculares de reciente extracción conservados en humedad para cada grupo de estudio dando un total de 45 dientes unirradiculares más 10 utilizados para los grupos control, 5 para positivo y 5 para negativo, dando un total de 55 dientes unirradiculares.

Divididos en los siguientes grupos:

- **Grupo 1:** 15 dientes unirradiculares con sistema WaveOne® Gold + NaClO 1%.
- **Grupo 2:** 15 dientes unirradiculares con sistema Reciproc® blue + NaClO 1%.
- **Grupo 3:** 15 dientes unirradiculares con sistema Excalibur® + NaClO 1%.
- **Grupo 4:** 5 dientes unirradiculares para control positivo.
- **Grupo 5:** 5 dientes unirradiculares para control negativo.

Los resultados se analizaron con el programa SPSS, con un nivel de significancia de $p < 0.05$, realizando la prueba de Kolmogorov Smirnov para determinar la normalidad de los datos, prueba de T Student para la comparación entre las muestras pre y post-instrumentación en cada grupo, prueba de ANOVA para determinar la diferencia de las medias entre los sistemas de instrumentación, en cuánto a la carga bacteriana antes y después de la instrumentación.

8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

La realización de este proyecto fue aprobada por el H. Comité de Ética en Investigación 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-073-022**

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

El investigador asume la responsabilidad de velar por la veracidad de los datos reportados, no existiendo conflicto de interés.

9 FASE EXPERIMENTAL

9.1 Fase1: Preclínica

9.1.1 Selección y preparación de las muestras

Se seleccionaron 55 raíces de primeros y segundos 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 puntas de ultrasonido.

9.1.2 Aleatorización de las piezas

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

Sistema de instrumentación	Tipo de cultivo
Grupo 1: WaveOne[®] Gold(15)	Biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i>
Grupo 2: Reciproc[®] blue (15)	Biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i>
Grupo 3: Excalibur[®] (15)	Biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i>
Grupo control positivo (grupo sin instrumentación (5)	Biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i>
Grupo control negativo (piezas estériles) (5)	Sin inocular

9.1.3 Toma de radiografías

Se tomaron radiografías digitales de los dientes en sentido mesio-distal y buco-lingual para determinar diámetros y morfología con el uso de radiovisiógrafo (figura 8).

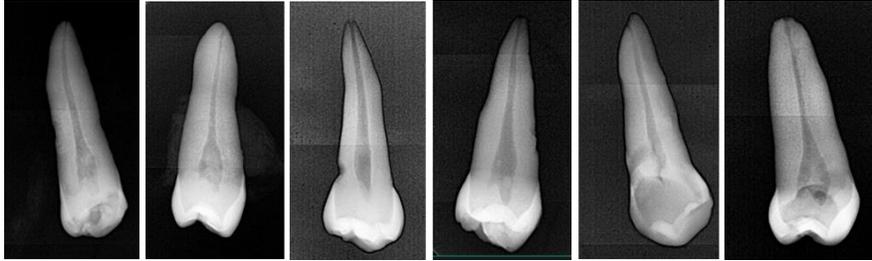


Figura 8 Radiografías digitales tomadas en sentido mesio-distal y vestibulo-lingual para confirmar presencia de un conducto recto.

9.1.4 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 NaClO 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).

Agitación ultrasónica empleando NaClO 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 (figura 9)

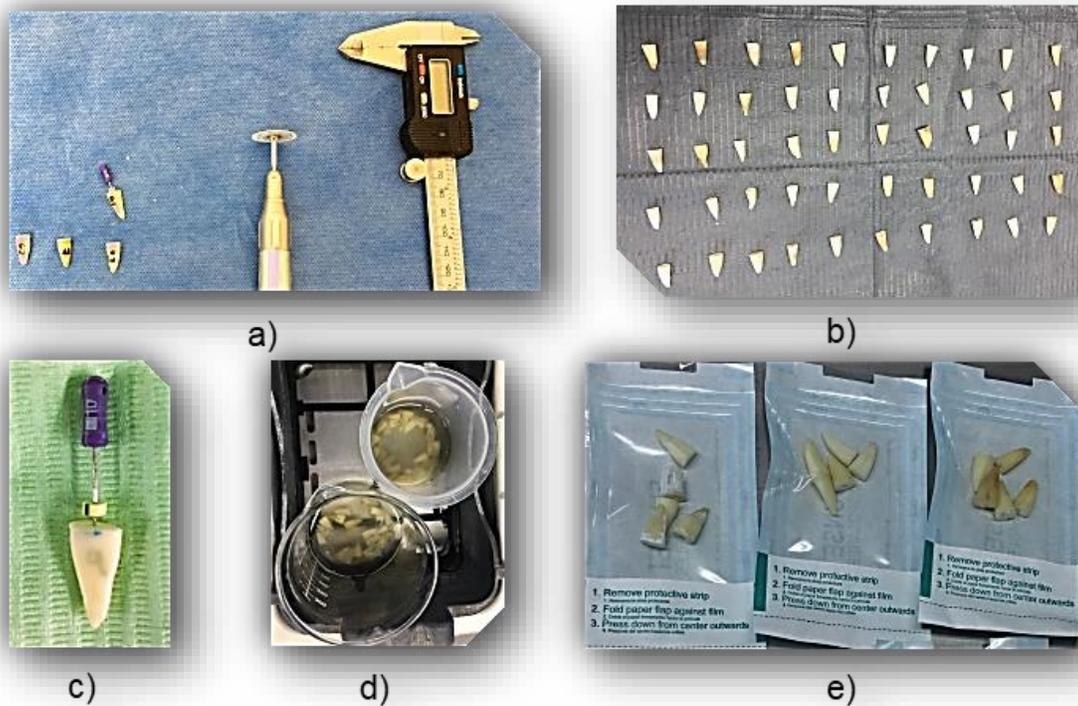


Figura 9: Proceso de preparación de muestras. a) y b) Estandarización de muestras con disco de diamante a 14 mm. c) permeabilización de conductos con lima K #10. d) Protocolo de limpieza en ultrasonido según el protocolo de Haapasalo y cols. e) Colocación de muestras en grupos de 5 piezas para ser llevados a esterilización por 15 min a 121°C

9.2 Fase 2: Microbiológica 1

9.2.1 Preparación de medios de cultivo y reactivación de cepas

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 *Enterococcus faecalis* (figura 10)

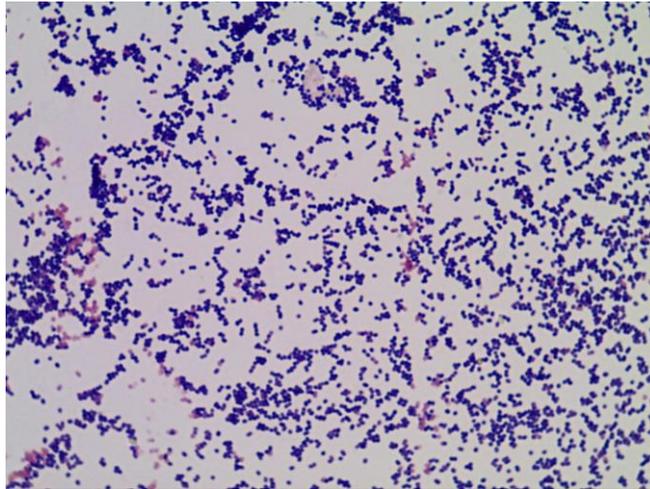


Figura 10: Tinción Gram de *Enterococcus faecalis* libre de contaminación

9.2.2 Formación de biofilm de forma estática, cultivo de *E. Faecalis* e inoculación.

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

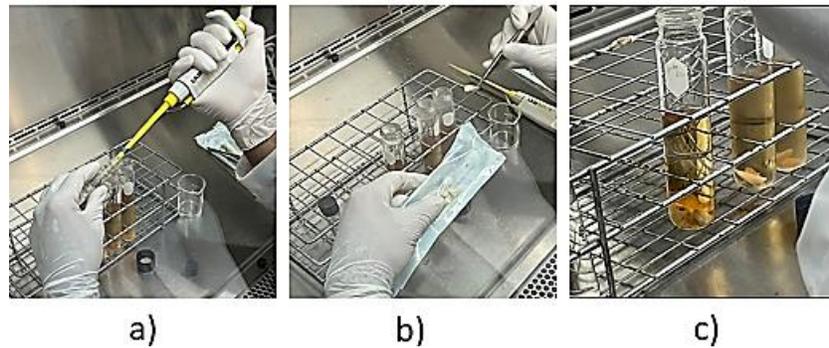
Se dividieron las muestras del primer grupo experimental en grupos de 5 raíces y fueron colocadas en tubos con 30 mL de medio de cultivo BHI los cuales fueron llevados a la incubadora por 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ para adaptación al medio de cultivo. Se realizó el mismo procedimiento con los 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 *Enterococcus 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 $35 \pm 2^\circ\text{C}$. (figura 11).

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.



*Figura 11: 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.*

9.3 Fase 3: Instrumentación

9.3.1 Aislamiento y desinfección 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 (figura 12).

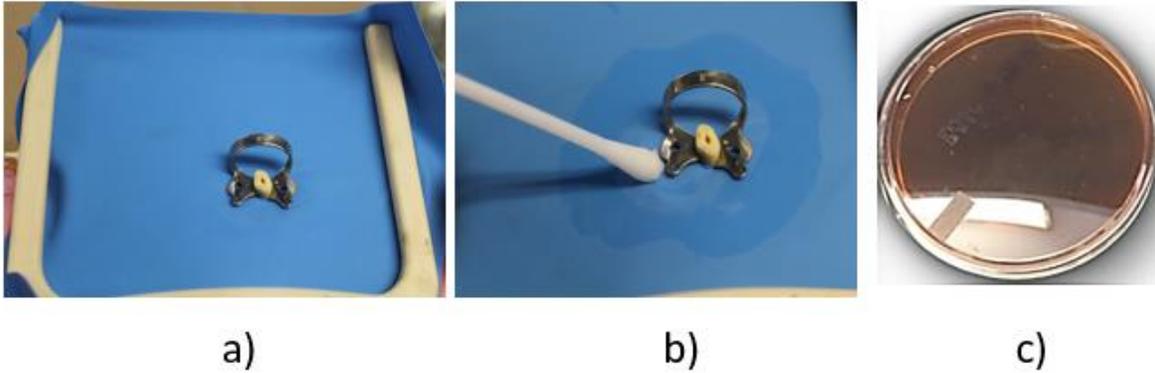


Figura 12: a) Aislamiento absoluto. b) Desinfección del campo operatorio con peróxido de hidrogeno al 30%, hipoclorito de sodio al 5.25% y tiosulfato de Sodio al 10% por 1 minuto cada uno. c) Toma de muestra en agar sangre para confirmar que estuviera libre de contaminación.

9.3.2 Toma de muestra del cultivo 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[®]).

9.3.3 Instrumentación

Grupo 1: Instrumentación con WaveOne® Gold.

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 NaClO se inició con la instrumentación con la lima Primary 25/07 con una trayectoria hasta la longitud de trabajo, realizando movimientos de entrada y de salida.

Al finalizar cada instrumentación se realizó irrigación del conducto con 2 mL de NaClO al 1% utilizando una jeringa desechable de 5 mL y aguja Endoeze (Ultradent, Products, INC); haciendo la aspiración simultanea de la solución irrigante.

Grupo 2: Instrumentación con Reciproc® blue.

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 NaClO se inició con la instrumentación con la lima R25 25/08 con una trayectoria hasta la longitud de trabajo establecida, realizando movimientos de entrada y de salida.

Al finalizar cada instrumentación se realizó irrigación del conducto con 2 mL de NaClO al 1% utilizando una jeringa desechable de 5 mL y aguja Endoeze (Ultradent, Products, INC); haciendo la aspiración simultanea de la solución irrigante.

Grupo 3: instrumentación con Excalibur®.

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 NaClO

se inició con la instrumentación con la lima Regular 25/05 con una trayectoria hasta la longitud de trabajo establecida, realizando movimientos de entrada y de salida.

Al finalizar cada instrumentación se realizó irrigación del conducto con 2 mL de NaOCl al 1% utilizando una jeringa desechable de 5 mL y aguja Endoeze (Ultradent, Products, INC); haciendo la aspiración simultánea de la solución irrigante.

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.

9.3.4 Toma de muestra de cultivo post-instrumentación

Una vez terminada la instrumentación del conducto radicular se introdujeron 3 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^{-8} y 10^{-9} , 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®). (figura 13).

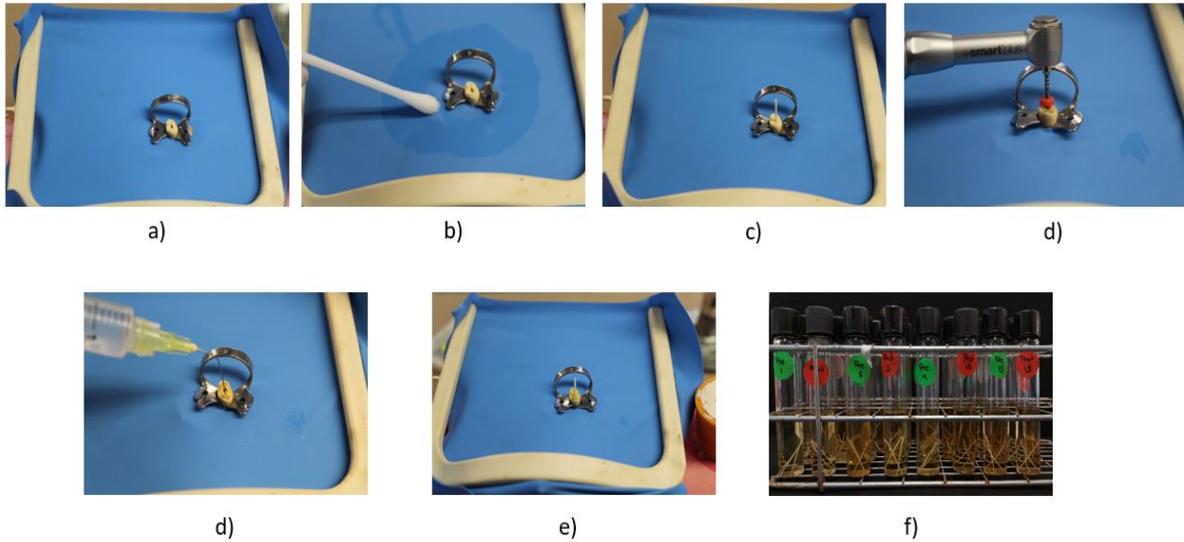


Figura 13: a) y b) Aislamiento absoluto de las piezas con dique de goma y grapa y toma de muestra de campo operatorio para confirmar la descontaminación del campo. c) Toma de muestra pre-instrumentación con 2 puntas de papel (1min cada una). d) Instrumentación de las piezas de acuerdo con las instrucciones 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, y 2 mL de solución salina e) y f) colocación de puntas de papel en tubos con BHI para su posterior cultivo

9.4 Fase 4: Microbiológica II.

9.4.1 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 ®). (figura 14).

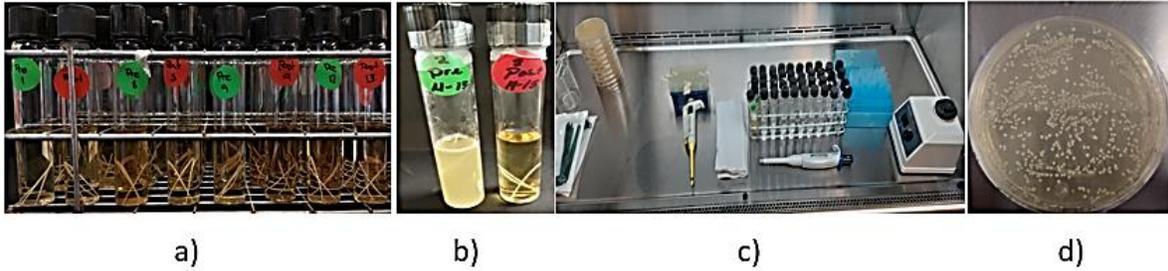


Figura 14: a) Muestras pre y post-instrumentación puestas a incubación durante 24 h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. b) Evaluación de la concentración bacteriana mediante escala de McFarland. c) Diluciones y siembra en placas de agar BHI, puestas a incubadora 24 h. d) Conteo de UFC

9.4.2 Observación al microscopio electrónico de barrido (MEB)

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 alcian 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 CO_2 (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).

Las lecturas en MEB del ápice radicular se realizaron a magnificaciones 1500x y 4500x

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

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 y la presencia de barrillo dentinario. Las muestras fueron observadas a 1500x y 4500x para visualizar el tercio apical del conducto radicular, por dos observadores independientes considerando la escala de Rome y col.

0	No hay barrillo dentinario, todos los túbulos dentinarios están abiertos.
1	Capa mínima de barrillo dentinario >50% de túbulos dentinarios visibles.
2	Capa moderada de barrillo dentinario <50% de túbulos dentinarios abiertos.
3	Abundante barrillo dentinario rodeado de túbulos dentinarios obliterados.

Grupo 1. Reciproc[®] blue, observación al MEB del tercio apical.

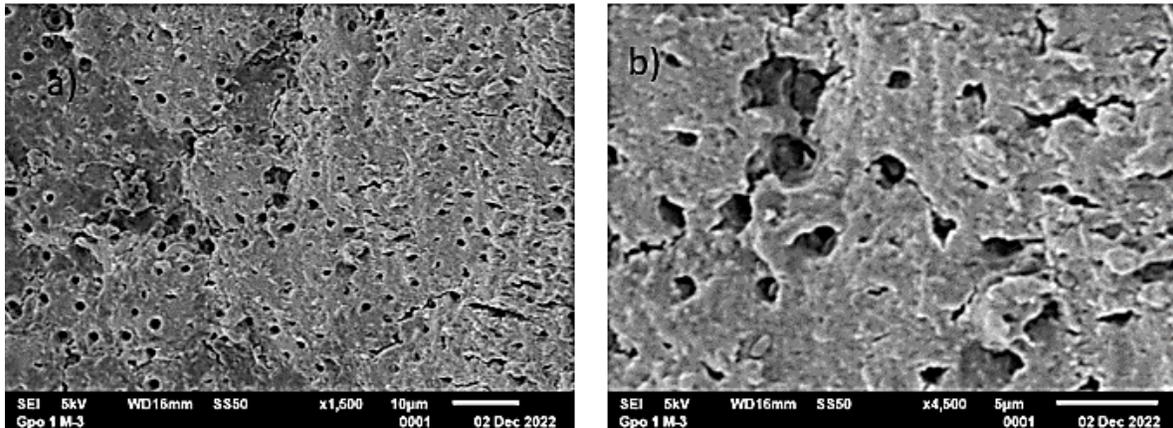


Figura 15: Observación al MEB del grupo 1 Reciproc[®] blue a) magnificación a 1500x b) magnificación a 4500x.

Grupo 2. Wave One® Gold, observación al MEB del tercio apical

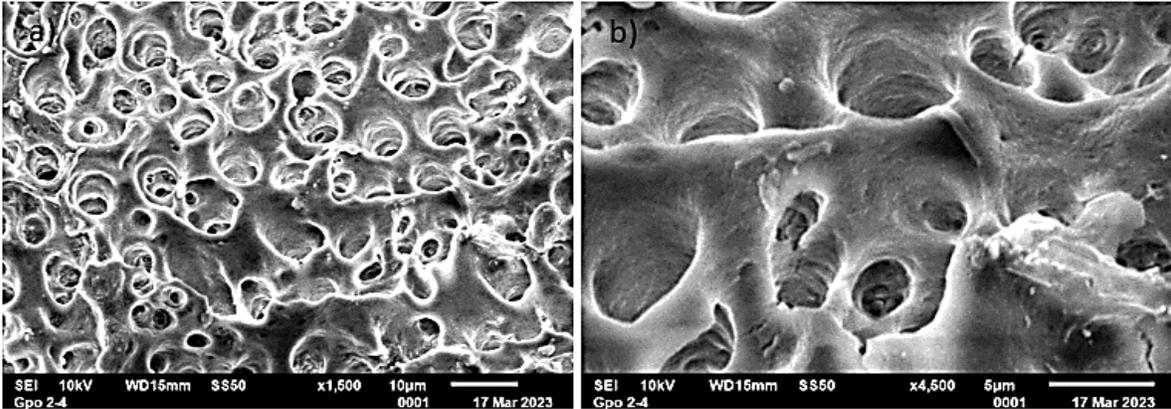


Figura 16: Observación al MEB del grupo 2 Wave One® Gold a) magnificación a 1500x b) magnificación a 4500x.

Grupo 3. Excalibur®, observación al MEB del tercio apical

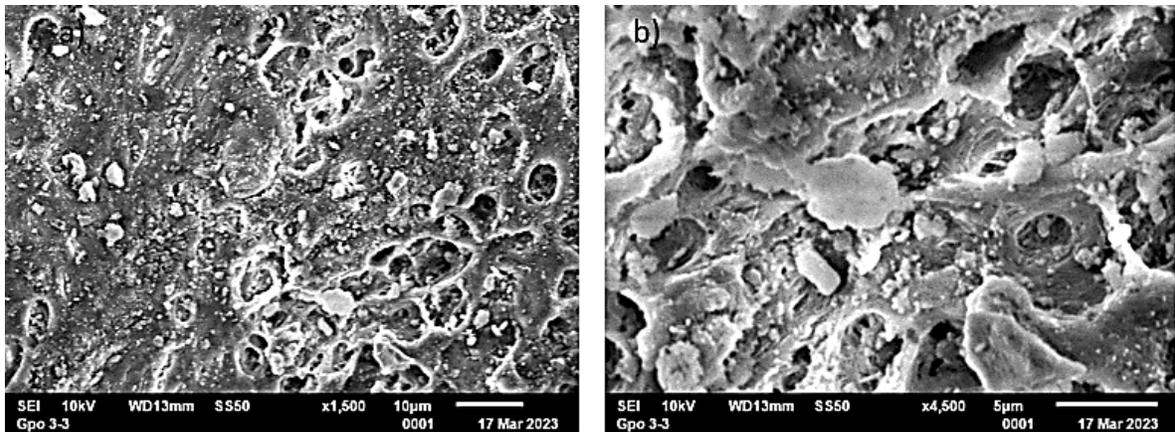


Figura 17: Observación al MEB del grupo 3 Excalibur® a) magnificación a 1500x b) magnificación a 4500x.

10 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.

10.1 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, donde se obtuvo el número de UFC/mL de la muestra inicial a través de la fórmula:

$$UFC/mL = \frac{(N^{\circ} UFC)(FD)}{Vol.in\acute{o}culo (mL)}$$

UFC/mL= Unidades Formadoras de Colonias por mililitro

N.º UFC= Número de colonias

FD= Factor de dilución

Vol. inóculo= Volumen 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.

	Pre-instrumentación Grupo 1	Pre-instrumentación Grupo 2	Post-instrumentación Grupo 2	Pre-instrumentación Grupo 3	Post-instrumentación Grupo 3	
N Parámetros normales ^{a,b}	15	15	15	15	15	
	Media	166.8000	62.0000	21.8667	225.2000	99.2667
	Desviación típica					
Diferencias más extremas	Absoluta	36.32237	7.27029	28.59787	80.76615	97.22027
	Positiva	.220	.258	.378	.151	.165
	Negativa	.202	.168	.378	.151	.165
Z de Kolmogorov-Smirnov	-.220	-.258	-.222	-.091	-.154	
Sig. asintót. (bilateral)	.851	1.000	1.463	.585	.639	

Se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov determinando una distribución normal de los datos.

Prueba de muestras relacionadas

		Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Pre-UFC Gpo1	67.93333	112.06915	28.93613	5.87150	129.99516	2.348	14	.034
	Post-UFC Gpo1								
Par 2	Pre-UFC Gpo 2	40.13333	26.68832	6.89090	25.35383	54.91283	5.824	14	.000
	Post-UFC Gpo 2								
Par 3	Pre-UFC Gpo 3	125.93333	57.00184	14.71781	94.36677	157.49990	8.557	14	.000
	Post-UFC Gpo 3								

Se realizó prueba de T-Student para determinar la diferencia entre las muestras pre y post-instrumentación, obteniendo una diferencia estadísticamente significativa con los tres sistemas.

ANOVA DE UN FACTOR Post-instrumentación

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	59599.600	2	29799.800	4.730	.014
Intra-grupos	264604.400	42	6300.105		
Total	324204.000	44			

En la prueba de ANOVA, se obtuvo una $p < 0.05$, determinando una diferencia estadísticamente significativa en las muestras post-instrumentación. En las muestras pre-instrumentación no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa $p > 0.05$.

Comparaciones Múltiples Variable dependiente: Post-instrumentación

	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%				
						Limite inferior	Limite superior			
HSD de Tukey	1.00	dimension3	2.00	77.00000*	28.98299	.029	6.5860	147.4140		
			3.00	-.40000	28.98299	1.000	-70.8140	70.0140		
		dimension2	dimension3	1.00	-77.00000*	28.98299	.029	-147.4140	-6.5860	
				3.00	-77.40000*	28.98299	.028	-147.8140	-6.9860	
	3.00	dimension3	1.00	.40000	28.98299	1.000	-70.0140	70.8140		
			2.00	77.40000*	28.98299	.028	6.9860	147.8140		
		Bonferroni	1.00	dimension3	2.00	77.00000*	28.98299	.033	4.7261	149.2739
					3.00	-.40000	28.98299	1.000	-72.6739	71.8739
dimension2	dimension3			1.00	-77.00000*	28.98299	.033	-149.2739	-4.7261	
				3.00	-77.40000*	28.98299	.032	-149.6739	-5.1261	
3.00	dimension3		1.00	.40000	28.98299	1.000	-71.8739	72.6739		
			2.00	77.40000*	28.98299	.032	5.1261	149.6739		

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05

En las pruebas post-hoc de Tukey y Bonferroni, se determinó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre el grupo 1 y 3, correspondiente a WaveOne® Gold y Excalibur®. Entre el grupo 2 y 3, correspondientes a Reciproc® blue y Excalibur® no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Tampoco se obtuvo diferencia entre los grupos 1 y 2 correspondientes a WaveOne® Gold y Reciproc® ($p > 0.05$).

En el análisis de las observaciones del MEB a una magnificación de 1500x, las imágenes de los controles positivos y negativos mostraron abundante barrillo dentinario con túbulos dentinarios obliterados correspondiente a un nivel 3 de la escala anteriormente descrita. En el grupo de WaveOne® Gold se observó una capa mínima de barrillo dentinario correspondiente a un nivel 1, mostrando un mejor comportamiento en la remoción del biofilm, en comparación con los otros sistemas.

11 DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de los sistemas de instrumentación de lima única WaveOne® Gold, Reciproc® blue y Excalibur® en la disminución de carga bacteriana y eliminación del biofilm en raíces de premolares unirradiculares inoculados con *E. faecalis*.

Uno de los objetivos más importantes de la preparación de los conductos radiculares es la eliminación del tejido pulpar vital o necrótico del barrillo dentinario. Además, de conseguir la eliminación de los microorganismos en conductos radiculares infectados y la prevención de la reinfección es fundamental para obtener el éxito en el tratamiento endodóntico. Por lo tanto, su eliminación debe resaltar el uso de instrumentos que faciliten la erradicación de bacterias y la conformación del conducto radicular.

Enterococcus faecalis se seleccionó en este estudio porque es de fácil crecimiento y posee una importancia clínica significativa pues está comúnmente asociada a infecciones endodónticas y a infecciones persistentes asintomáticas.(6) También posee la capacidad de formar el biofilm lo cual contribuye a la resistencia bacteriana durante los tratamientos endodónticos(46).

La eliminación microbiológica es de suma importancia en la terapia endodóntica, debido a que la presencia de bacterias es la principal causa de fracaso, se reportan estudios de la incidencia de *Enterococcus faecalis* desde 1998 como el de Molander, en donde examina el estatus microbiológico de 100 dientes obturados, con presencia de periodontitis apical comprobada por radiografía, y concluye que el microorganismo aislado con mayor frecuencia era *Enterococcus Faecalis* aislado en un 69% del total de los casos, esto fue logrado mediante identificación micro morfológica, morfología de colonias, pruebas físicas y bioquímicas, así como por cromatografía de gases(47), posteriormente en 2003 Pinheiro coincide con los estudios de Molander en donde identifica a *E. faecalis* en un 52.94% del total de los casos fallidos estudiados, él utiliza para este fin placas de agar y pruebas bioquímicas(48), posteriormente Waltimo en 2005, en un estudio realizado con el fin

de evaluar la eficacia clínica de la preparación quimiomecánica y medicación del conducto radicular y la curación de lesiones periapicales, identifica a *Enterococcus faecalis* mediante pruebas bioquímicas en un 17% (49). Esta incidencia a través del tiempo confirma que *Enterococcus faecalis* es identificado constantemente dentro del conducto radicular, sobre todo en infecciones secundarias, siendo preocupante, ya que es el principal causante del fracaso endodóntico.

Es de suma importancia considerar que cuando el tejido pulpar se ha necrosado e infectado, se produce una periodontitis apical, para que este problema se resuelva, la eliminación de la infección del conducto es un punto clave, por lo que el objetivo principal del tratamiento es desinfectar el conducto radicular.

Atendiendo a esta problemática, han surgido distintos sistemas de instrumentación, que prometen tratamientos más efectivos, predecibles y seguros, utilizando para este fin menor cantidad de instrumentos, ya sea con movimientos reciprocantes como el sistema de lima única WaveOne® Gold, Reciproc® blue y Excalibur®.

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(2,9,50,51).

El sistema Excalibur® consiste en la utilización de la lima regular la cual tiene una conicidad .05 con el fin de tener una mayor similitud con los sistemas comparados. Los datos obtenidos señalan que es el grupo con resultados con menor disminución de la carga bacteriana en comparación con el grupo de WaveOne® Gold.

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. En diversos estudios en los que se han comparado la reducción de la carga bacteriana con sistemas de lima única.

Machado en el 2013, compara la reducción bacteriana con sistemas reciprocantes y rotatorios durante la preparación del conducto radicular, en conductos contaminados con un cultivo de *E. faecalis*, después de un periodo de incubación de 21 días y como resultado se menciona que el recuento bacteriano de los grupos disminuyó significativamente en comparación con las muestras previas a la instrumentación(2).

S. Bürklein, en el 2012 examina in vitro conductos radiculares, involucrando sistemas de instrumentación de un solo instrumento; Reciproc y Wave One contra sistemas seriados; Mtwo y ProTaper, comparando la efectividad de la conformación y limpieza de los diferentes instrumentos, obteniendo como resultado que, en los cuatro sistemas, se encontraron áreas parcialmente no instrumentadas, con residuos restantes en todas las secciones(52).

Por otro lado, Taba Özyürek y cols, en el 2017 evaluaron las capacidades de limpieza de las limas Reciproc, WaveOne Gold y Hyflex DM en bloques de resina en forma de S obteniendo los siguientes resultados, el grupo Reciproc eliminó una cantidad estadísticamente significativamente mayor de resina de todas las regiones del conducto en comparación con los grupos WaveOne GOLD y Hyflex DM(53).

En otro estudio clínico aleatorizado realizado por Rodríguez Amaral y cols, en este comparó la eficacia antibacteriana in vivo de Reciproc Blue (RB), XP-endo Shaper (XP-S) y XP-endo Shaper asociados con los sistemas XP-endo Finisher (XP-F) en raíces de forma ovalada infectadas con conductos con periodontitis apical primaria, concluyendo que los sistemas XP-S y RB redujeron drásticamente la carga bacteriana en conductos radiculares de forma ovalada con periodontitis apical primaria. XP-F utilizado como instrumento complementario a la preparación quimiomecánica promovió una reducción bacteriana significativamente mayor(2).

Los resultados de este estudio determinan que hubo una diferencia estadísticamente significativa en la capacidad de reducción bacteriana entre los sistemas Excalibur® en comparación con WaveOne® Gold, no habiendo diferencia con Reciproc® blue.

En el presente estudio el nuevo sistema de instrumentación Excalibur® demostró que es efectivo en comparación con WaveOne® Gold, pero no con Reciproc® blue; se recomiendan realizar más estudios con respecto a Excalibur® para validar nuestros resultados.

12 CONCLUSIONES

Queda en evidencia la importancia de la instrumentación durante la preparación biomecánica de los conductos para lograr la remoción del biofilm y disminución de carga bacteriana.

Se logró comprobar la eficiencia en la remoción del biofilm del tercio apical con el empleo del microscopio electrónico de barrido en cuanto a los grupos experimentales, el de WaveOne® Gold demostró un mejor comportamiento en la remoción del biofilm, obteniendo un mayor número de túbulos dentinarios permeables en comparación con Reciproc® blue y Excalibur®.

Se rechaza la hipótesis de investigación, debido a que el sistema Excalibur® no presentó una disminución en la carga bacteriana en comparación con WaveOne® Gold, sin embargo, con Reciproc® blue no mostró diferencia estadísticamente significativa.

Los tres sistemas presentan una disminución en la carga bacteriana al comparar las muestras pre y post instrumentación, por lo que se consideran confiables para su utilización clínica.

PERSPECTIVAS

1. Evaluar la limpieza y reducción bacteriana en conductos radiculares con una curvatura mayor.
2. Evaluar la conformación en conductos radiculares con el sistema Excalibur® en comparación con WaveOne® Gold y Reciproc® blue.
3. Determinar la cantidad de extrusión de detritus y bacterias con los sistemas utilizados en el presente estudio.

13 BIBLIOGRAFÍA

1. Nanci A, Causa H. Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function 9TH EDITION [Internet]. Available from: www.konkur.in
2. 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.
3. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 2004;15(5):308–20.
4. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol*. 2001;183(12):3770–83.
5. Sundqvist G Figdor D. Life as an endodontic pathogen. *Endod Top*. 2003;6:3–28.
6. U Sjögren D Figdor S Persson G Sundqvist. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* . 1997;297–306.
7. De Paz Luis Chávez. Redefining the Persistent Infection in Root Canals: Possible Role of Biofilm Communities. *J Endod*. 2007;33(6):652–62.
8. Machado ME de L, Nabeshima CK, Caballero-Flores H, Elmadjian-Filho M, Duarte MAH, Ordinola-Zapata R, et al. Instrument design may influence bacterial reduction during root canal preparation. *Braz Dent J*. 2017;28(5):587–91.
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.* 2020;46(9):1228–34.
10. Siqueira J. F. Rôças I. N. Critical review in oral biology and Medicine: Diversity of endodontic microbiota revisited. *J Dent Res.* 2009;88(11):969–81.
 11. Silva-Herzog Flores D, Oliva R, César Ramos Núñez P. Mecanismo de presentación antigénica en el tejido pulpar. *Revista ADM.* 2005;LXII(4):125–31.
 12. Jhajharia K, Mehta L, Parolia A, Shetty Kv. Biofilm in endodontics: A review. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2015;5(1):1.
 13. 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.
 14. 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).
 15. Machado ME de L, Nabeshima CK, Caballero-Flores H, Elmadjian-Filho M, Duarte MAH, Ordinola-Zapata R. Instrument design may influence bacterial reduction during root canal preparation. *Braz Dent J.* 2017;28(5):587–91.
 16. Burleson A, Nusstein J, Reader A, Beck M. The In Vivo Evaluation of Hand/Rotary/Ultrasound Instrumentation in Necrotic, Human Mandibular Molars. *J Endod.* 2007;33(7):782–7.
 17. Sirvent Encinas F, García Barbero E, García Barbero E. ENDODONCIA Endodoncia. 2010;28(4): 21-5.

18. Gao Y, Jiang X, Lin D, Chen Y, Tong Z. The Starvation Resistance and Biofilm Formation of *Enterococcus faecalis* in Coexistence with *Candida albicans*, *Streptococcus gordonii*, *Actinomyces viscosus*, or *Lactobacillus acidophilus*. J Endod. 2016;42(8):1233–8.
19. Pinheiro ET, Gomes BPF, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Int Endod J. 2003;36(1):1–11.
20. Moradas Estrada M. Rotary instrumentation in endodontics: which kind of lime you might use. Av Odontoestomatologia. 2017;33(4):151–60.
21. María O, Garcia F, Racciatti OG. Incidencia entre el Diseño Transversal y la Capacidad de Corte de los Instrumentos Rotatorios. Electronic Journal Endod. 2001;2:1–11.
22. Walia Harmeet, Brantley William A, Gerstein Harold. An Initial Investigation of the Bending and Torsional Properties of Nitinol Root Canal Files. J Endod . 1988;14(7):346–51.
23. Haapasalo M, Shen YA. Evolution of nickel-titanium instruments: from past to future. Endod Topics. 2013;29(1):3–17.
24. Haapasalo M, Shen Y. Evolution of nickel-titanium instruments: from past to future. Endod Topics. 2013;29(1):3–17.
25. Sawant K, Pawar AM, Banga KS, Machado R, Karobari MI, Marya A. Dentinal microcracks after root canal instrumentation using instruments manufactured with different NiTi alloys and the SAF system: A systematic review. Applied Sciences (Switzerland). 2021;11(11):4984–4984.
26. Yared G. Canal preparation using only one Ni-Ti rotary instrument: Preliminary observations. Int Endod J. 2008;41(4):339–44.

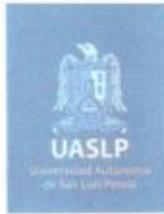
27. Zupanc J, Vahdat-Pajouh N, Schäfer E. New thermomechanically treated NiTi alloys – a review. *Int Endod J.* 2018;51(10):1088–103.
28. Souza MA, Pazinatto B, Bischoff KF, Palhano HS, Cecchin D, de Figueiredo JAP. Influence of ultrasonic activation over final irrigants in the removal of photosensitizer from root canal walls after photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017;17:216–20.
29. Roane JB Sabala CL Ducanson MG. The “Balanced Force” Concept for Instrumentation of Curved Canals El Concepto de “Fuerza Balanceada” para la Instrumentacion de Conductos Curvos. *J Endod.* 1985;11(5):203–11.
30. Di Nardo D, Galli M, Morese A, Seracchiani M, Ferri V, Miccoli G, et al. A comparative study of mechanical resistance of two reciprocating files. *J Clin Exp Dent.* 2019;11(3):231–5.
31. Bürklein S, Flüch S, Schäfer E. Shaping ability of reciprocating single-file systems in severely curved canals: WaveOne and Reciproc versus WaveOne Gold and Reciproc blue. *Odontology.* 2019;107(1):96–102.
32. Klymus ME, Alcalde MP, Vivian RR, Só MVR, de Vasconcelos BC, Duarte MAH. Effect of temperature on the cyclic fatigue resistance of thermally treated reciprocating instruments. *Clin Oral Investig.* 2019;23(7):3047–52.
33. Gambarini G, Piasecki L, Miccoli G, Gaimari G, di Giorgio R, di Nardo D. Classification and cyclic fatigue evaluation of new kinematics for endodontic instruments. *Australian Endodontic Journal.* 2019;45(2):154–62.
34. Dioguardi M, Troiano G, Laino L, Russo L Lo, Giannatempo G, Lauritano F. Original Article ProTaper and WaveOne systems three-dimensional comparison of device parameters after the shaping technique. A micro-

- CT study on simulated root canals. *Int J Clin Exp Med* [Internet]. 2015;8(10):17830–4. Available from: www.ijcem.com/
35. Yared GM, Bou Dagher FE, Machtou & P. Cyclic fatigue of ProFile rotary instruments after clinical use. *Int Endod J*. 2000;30(33):204–7.
 36. Keskin C, İnan U, Demiral M, Keleş A. Cyclic fatigue resistance of R-Pilot, WaveOne Gold Glider, and ProGlider glide path instruments. *Clin Oral Investig*. 2018;22(9):3007–12.
 37. Aasim SA, Mellor AC, Qualtrough AJE. The effect of pre-soaking and time in the ultrasonic cleaner on the cleanliness of sterilized endodontic files. *Int Endod J*. 2006;39:143–9.
 38. Buchanan G, Warren N, Gamielien M. Debris contamination of endodontic hand files in dental practice. *South African Dental Journal*. 2018;73(7):441–4.
 39. Rubio J, Zarzosa JI, Pallarés A. A comparative study of cyclic fatigue of 10 different types of endodontic instruments: An in vitro study. *Acta Stomatol Croat*. 2019;53(1):28–36.
 40. Karamifar K, Samavi S, Saghiri MA. Topographic changes in NiTi rotary instruments after the clinical use. *Australian Endodontic Journal*. 2020 Dec 1;46(3):315–22.
 41. Fangli T, Maki K, Kimura S, Nishijo M, Tokita D, Ebihara A, et al. Assessment of mechanical properties of waveone gold primary reciprocating instruments. *Dent Mater J*. 2019;38(3):490–5.
 42. Topçuoğlu HS, Düzgün S, Aktı A, Topçuoğlu G. Laboratory comparison of cyclic fatigue resistance of WaveOne Gold, Reciproc and WaveOne files in canals with a double curvature. *Int Endod J*. 2017;50(7):713–7.

43. Abuhulaibah HF, Abumostafa A. Resistance to Cyclic Fatigue of Nickel-Titanium Files Immersed in Sodium Hypochlorite at Body Temperature. *Int J Dent*. 2020;22(20):1–5.
44. Topçuoğlu HS, Topçuoğlu G. Cyclic Fatigue Resistance of Reciproc Blue and Reciproc Files in an S-shaped Canal. *J Endod*. 2017;43(10):1679–82.
45. https://zarc4endo.com/excalibur/?utm_source=Gaceta_Dental&utm_medium=web&utm_campaign=excalibur. INSTRUCCIONES DE USO [Internet]. [cited 2023 Jun 4]. Available from: https://zarc4endo.com/excalibur/?utm_source=Gaceta_Dental&utm_medium=web&utm_campaign=excalibur
46. Vendramini Y, Salles A, Portella FF, Brew MC, Steier L, de Figueiredo JAP. Antimicrobial effect of photodynamic therapy on intracanal biofilm: A systematic review of in vitro studies. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020;32(32):1–11.
47. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1998; 31:1–7.
48. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*. 2003; 36:1–11.
49. Waltimo T, Sen B.H., Meurman J.H., Ørstavik D., Haapasalo M.P.P. Yeasts in apical periodontitis. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003; 14:128–37.
50. Bortoluzzi EA, Carlon D, Meghil MM, El-Awady AR, Niu L, Bergeron BE. Efficacy of 3D conforming nickel titanium rotary instruments in eliminating canal wall bacteria from oval-shaped root canals. *J Dent*. 2015;43(5):597–604.

51. 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.
52. Bürklein S, Hinschitza K, Dammaschke T, Schäfer E. Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth: Reciproc and WaveOne versus Mtwo and ProTaper. *Int Endod J*. 2012;45(5):449–61.
53. Özyürek T, Yılmaz K, Uslu G. Shaping Ability of Reciproc, WaveOne GOLD, and HyFlex EDM Single-file Systems in Simulated S-shaped Canals. *J Endod*. 2017;43(5):805–9.
54. Rome W, Doran J, Walker W. The effectiveness of Gly-Oxide and NaOCl in preventing smear layer formation. *J Endod*. 1985;11:281-8.

ANEXOS



San Luis Potosí, S.L.P. 6 de octubre de 2022

C.D. Fernando Garcia Peña
Maestría en Endodoncia
Facultad de Estomatología, UASLP
PRESENTE

Por este conducto me dirijo a Usted en referencia a su trabajo de investigación titulado “Comparación de la efectividad antibacteriana de sistemas de instrumentación con lima única en conductos radiculares.” Asignado con la clave: **CEI-FE-073-022**.

Dicho trabajo fue evaluado en los **aspectos del marco ético-legal y bioseguridad** por los miembros del H. Comité de Ética en Investigación: Dra. Yolanda Hernández Molinar, M. en C. Ana María Guadalupe González Amaro, Dra. Norma Verónica Zavala Alonso, Dra. Claudia Edith Dávila Pérez, Dra. Rita Elizabeth Martínez Martínez, Dr. José Arturo Garrocho Rangel, Dr. Alan Martínez Zumarán y Dr. Víctor Mario Fierro Serna. De dicha evaluación y de forma colegiada, el Comité ha dictaminado que su protocolo de investigación es **APROBADO POR UNANIMIDAD** pudiendo llevarlo a cabo en los tiempos que Usted ha considerado necesarios para la ejecución del mismo.

El Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Estomatología se rige con la clave **CONBIOÉTICA-24-CEI-001-20190213** de acuerdo con las directrices nacionales para la integración y funcionamiento de los Comités de Ética e Investigación emitidas por la Comisión Nacional de Bioética (CONBIOÉTICA).

Le solicitamos nos haga llegar los informes correspondientes del avance de su proyecto de investigación, así como un informe final para nuestro archivo, recordándole además que este proyecto podrá ser monitoreado por este Comité.

ATENTAMENTE


DRA. RITA ELIZABETH MARTÍNEZ MARTÍNEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA, UASLP

www.uaslp.mx

Av. Dr. Manuel Nava 2
Zona Universitaria • CP 76200
San Luis Potosí, S.L.P., México
tel. +52 (444) 925 2300
ext. 5116 y 5130
(444) 925 2345, 834 2522, 25 y 25
www.estomatologia.uaslp.mx
cei@estomatologia.uaslp.mx