



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

USO DEL OZONO EN LA DESINFECCIÓN DE
CONDUCTOS RADICULARES.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

DARLENE CRISTELL CELESTE GARCÍA LIMA

TUTORA: Esp. ROXANA BERENICE MARTÍNEZ VÁZQUEZ

ASESOR: Esp. DANIEL DUHALT IÑIGO

MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por ser el principio y fin de todo cuanto existe y por ser inspiración en mi vida para seguir creciendo en todos los sentidos. Siento gozo porque me ha acompañado y guiado en todo momento de fortaleza y debilidad. Doy gracias a Él por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo de felicidad.

A mis padres Héctor y Lupita por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación. Quiero decirles que los amo y que son mi ejemplo de vida a seguir, porque aun con obstáculos hemos salido adelante juntos. Nunca terminaré de agradecerles y recordarles cuánto los quiero.

A toda mi familia le agradezco su apoyo y su amor incondicional cuando más lo he necesitado, son una parte muy importante de mi vida.

Doy gracias a la vida porque siempre me ha dado destellos de luz para que no me detenga y siga adelante, por haber traído a mi vida a personas importantes que viven en mi corazón. Gracias Carlos por todo el apoyo y tu cariño sincero, tú confiaste, creíste en mí e hiciste de mi etapa universitaria un trayecto de vivencias que jamás olvidaré. A todos y cada uno de mis amigos por motivarme a seguir adelante en los momentos de desesperación, por todos los momentos que pasamos juntos y sobre todo por hacer de su familia, una familia para mí. Gracias Araceli por llenar mi vida de alegrías y demostrarme que la amistad si existe.

Agradezco la confianza, el apoyo, la paciencia y la dedicación de tiempo a los profesores Roxana Berenice Martínez Vázquez y Daniel Duhalt Iñigo, en la realización de este trabajo. Gracias Dra. Roxana por haber compartido conmigo sus conocimientos y sobre todo su amistad.

Cuando quieres algo, todo el universo conspira para que realices tu deseo... basta un poco de espíritu aventurero para estar siempre satisfechos, pues en esta vida, gracias a Dios, nada sucede como deseábamos, como suponíamos, ni como teníamos previsto...



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5
PROPÓSITO	8
OBJETIVOS	9
CAPÍTULO 1	
1.1 Antecedentes.....	10
CAPÍTULO 2	
2.1 Características químicas y biológicas del ozono.....	17
2.2 Modalidades terapéuticas del ozono.....	20
2.3 Indicaciones y contraindicaciones sobre el uso del ozono.....	21
2.4 Ventajas y desventajas sobre el uso del ozono.....	26
2.5 Mecanismo de acción del ozono en la desinfección de conductos radiculares.....	29
2.6 Unión del ozono a vehículos y medicamentos de acción prolongada.....	31



CAPÍTULO 3

3.1	Requerimientos de una solución irrigante antimicrobiana.....	38
3.2	Microorganismos post-tratamiento endodóncico y el uso de ozono.....	47
3.3	Protocolo sobre el uso del ozono en el tratamiento endodóncico.....	58
	CONCLUSIONES.....	59
	FUENTES BIBLIOGRÁFICAS.....	62



INTRODUCCIÓN

En la actualidad ha habido un avance significativo en lo que respecta a la Odontología y sus especialidades, la tecnología ha incrementado así como la búsqueda de métodos que puedan hacer más sencillo, eficaz y ergonómico el tratamiento odontológico tanto para el paciente como para el odontólogo.

Dentro de la Odontología, la endodoncia ha buscado el uso de nuevas técnicas en su área, lo cual ha provocado un aumento en la investigación. El empleo de nuevos agentes antimicrobianos ha causado interés entre los investigadores para lograr erradicar la infección y re-infección de los sistemas de conductos radiculares, o en su caso lograr disminuir significativamente la colonización de bacterias que pudieran provocar un tratamiento pulpar sin éxito.

El sistema de conductos ha mostrado anatómicamente cierta complejidad para los odontólogos en el tratamiento endodóncico, sumándole a esta situación la compleja microbiología intrarradicular. En las infecciones endodóncicas se encuentra cierto tipo de microbiota correlacionada al estadio de la infección. En las infecciones pulpares predominan bacterias Gram negativas, anaerobias, aerobias, facultativas o microaerófilas, en tanto se provoca una infección persistente predominan bacterias Gram positivas, anaerobias o bacterias facultativas y hongos. En el momento en que las bacterias se coagregan y se adhieren a las superficies forman biofilms, en los cuales los microorganismos forman una estructura compuesta por polisacáridos, proteínas y ADN, situación que les confiere alta resistencia a la eliminación.

Los microorganismos cada vez presentan características que los hace más resistentes y virulentos, e inclusive se ha observado a través de recientes estudios la presencia de bacterias nuevas no identificadas, lo cual indica la



necesidad de sustancias irrigantes eficaces y potentes. La instrumentación mecánica de los conductos por sí sola no es capaz de eliminar adecuadamente las bacterias y los residuos pulpares, tomando en cuenta lo anterior, se hace imprescindible utilizar durante los procesos de irrigación sustancias que ayuden por medio de acciones físicas y químicas a eliminar microorganismos y residuos pulpares.

Numerosas soluciones irrigantes han sido utilizadas en endodoncia para llevar a cabo un efecto químico deseado, algunas soluciones destruyen y eliminan bacterias del conducto, es decir, ejercen una acción antimicrobiana, mientras que otras disuelven el remanente pulpar y otros desechos, ejerciendo una función desinfectante coadyuvando a la limpieza de los conductos radiculares. Para estos propósitos se ha empleado desde agua destilada, solución salina, suero fisiológico, yoduro de potasio, peróxido de hidrógeno, solución saturada de hidróxido de calcio, ácido fosfórico, láctico y cítrico; clorhexidina, ácido etilendiaminotetracético entre otros. El hipoclorito de sodio es el irrigante ampliamente utilizado en odontología, comenzó utilizándose en el área médica como desinfectante de heridas hasta que se recomendó su utilización en combinación con el peróxido de hidrógeno en el área endodóncica. El hipoclorito de sodio ha sido causa de numerosas investigaciones por lo cual se ha extendido su uso hasta hoy en día.

Se busca la posibilidad de usar el ozono en la terapéutica pulpar para lograr disminuir la invasión bacteriana y evitar la formación de biofilms intrarradiculares. Es por ello que se han llevado a cabo diferentes estudios sobre el ozono, con el fin de obtener resultados en diferentes instancias, medios y presentaciones del mismo, para lograr entender si su uso pudiera llegar a tener una significativa acción en contra de los microorganismos superior o similar al hipoclorito de sodio, irrigante de primera elección en el tratamiento de conductos.



Se han diseñado diferentes aparatos generadores de ozono con acción en tratamientos odontológicos, dentro de ellos su uso como desinfectante en endodoncia con la idea de combatir a los microorganismos patógenos y como coadyuvante al trabajo biomecánico en la terapia pulpar.



PROPÓSITO

Presentar de manera articulada una compilación bibliográfica sobre las características del ozono para uso odontológico en el área de endodoncia como desinfectante de conductos radiculares para controlar los diferentes tipos de microorganismos patógenos presentes en las infecciones endodóncicas, con el objetivo de lograr un tratamiento de conductos radiculares exitoso, sin estados patológicos, alcanzando la reparación periapical y conservando a los órganos dentarios con funcionalidad en la cavidad oral.



OBJETIVOS

- Conocer desde cuándo se ha utilizado el ozono como terapia en el área odontológica.
- Analizar el potencial del ozono como agente antimicrobiano intrarradicular, coadyuvante del trabajo biomecánico en el tratamiento de conductos radiculares.
- Identificar las características generales del ozono, y sus presentaciones para uso endodóncico.
- Diferenciar la eficacia del ozono contra el uso de hipoclorito de sodio (NaOCl) como sustancia química desinfectante.
- Indicar si es un antimicrobiano eficaz contra *Enterococcus faecalis* y otros microorganismos resistentes en estado planctónico y dentro de un biofilm.
- Explicar la importancia de la posible unión a vehículos o medicamentos de acción prolongada para lograr una mejor desinfección en el tratamiento de conductos radiculares.
- Verificar si el ozono cumple con las características ideales de un irrigante para desinfectar los sistemas de conductos radiculares, mediante su mecanismo de acción.
- Indicar la mejor forma de usar el ozono para la desinfección de conductos radiculares con respecto a otros auxiliares en la irrigación.

CAPÍTULO 1

1.1 Antecedentes.

Desde hace casi un siglo se han intentado desarrollar nuevas estrategias eficaces en los protocolos de tratamientos de conductos radiculares con la finalidad de disminuir la tasa de fracaso, este problema ha mostrado una tasa del 16%. Por lo cual se realizó la propuesta de utilizar nuevas técnicas para desinfectar los sistemas de conductos radiculares como el uso de láser, irrigación con agua activada electroquímicamente y el uso de ozono (Deltour, 1970; Chahverdiani & Thadj-Bakhche 1976) ¹.

Christian Friedrich Schönbein es considerado el padre de la terapia con ozono (1840) un gas con gran poder bactericida, fungicida y virucida que se ha utilizado actualmente en el campo médico y odontológico (*Imagen 1*). Schönbein es un químico alemán que pasó una descarga eléctrica a través del agua, un extraño olor se produjo y lo denominó Ozon, del

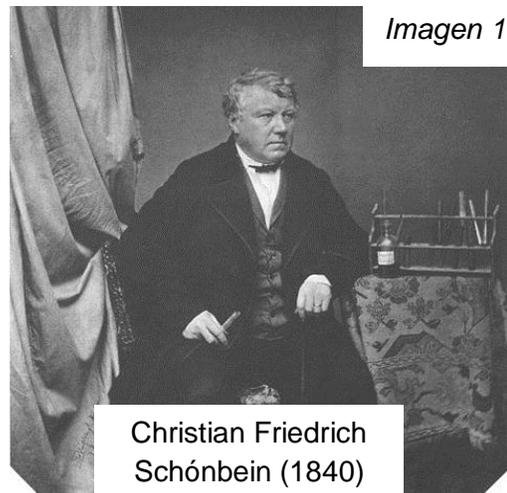


Imagen 1.

vocablo griego *ozein* que significa “olor”. El doctor E. A. Fish (1889-1966) de Odontología fue la primer persona en usar el agua ozonizada en la práctica clínica, y el cirujano alemán Dr. Erwin Payr (1871-1946), lo usó en cirugías e informó sus resultados en Berlín en 1935 en la German Surgical Society ^{2,3}. Su aplicación se remonta a la Primera Guerra Mundial, de forma tópica como cicatrizante de heridas sépticas. El uso en el área médica se difundió en Europa, específicamente en Suiza, Austria, Italia, España y tuvo gran auge en los países del este europeo, como Rusia. Debido a la estrecha



relación tecnológica entre Rusia y Cuba, éste último comenzó a desarrollar el uso del gas, y actualmente se ha utilizado en los sistemas públicos de salud y en el Centros de Investigación Básica y ensayos biológicos del ozono ^{2,3}.

Hasta 1950, Joachim Hansler, un físico alemán se unió con el médico alemán Hans Wolff para desarrollar un generador de ozono de uso médico que hoy en día es la base del diseño de generador moderno. Fue entonces cuando se fabricaron materiales resistentes al ozono ³.

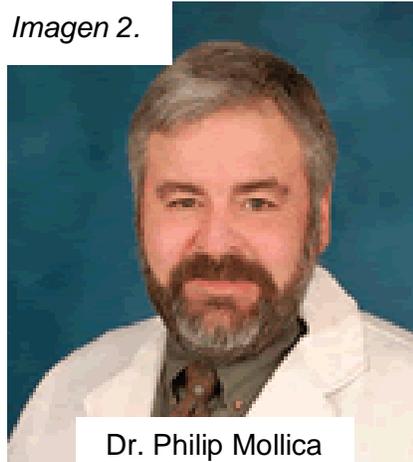
Broadwater (1973), indica que el ozono es un poderoso agente oxidante que se ha utilizado en la industria del agua por muchos años con el fin de eliminar las bacterias. En hospitales se ha usado para descontaminar las salas de hospitales, en la auto-hemoterapia y en salas contaminadas con meticilina resistentes a *S. aureus* ¹.

El ozono ha demostrado tener pocos efectos colaterales, si es inhalado puede ser muy agresivo para los alvéolos pulmonares por lo que se ha utilizado mediante otras técnicas de aplicación, las cuales han presentado eficacia terapéutica por más de un siglo de utilización ².

En el área odontológica se ha usado para el tratamiento de infecciones en encías, en cirugías, implantes fallidos, caries radiculares, tratamientos de conductos radiculares por Deltour (1970), y por Chahverdiani Thadj-Bakhche (1976); y tiene un uso potencial en la reducción de bacterias en el sistema de agua de la unidad dental ¹.

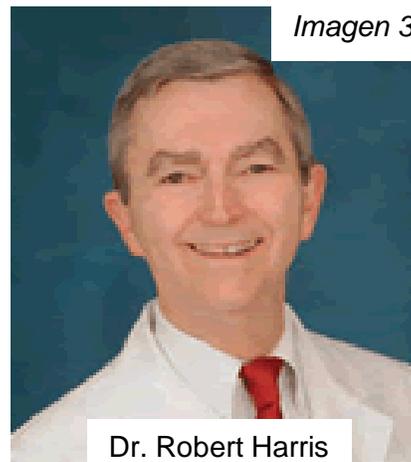
El uso del ozono ha ganado interés en la comunidad médica recientemente en la estela de un número creciente de artículos científicos y clínicos publicados en revistas internacionales y revistas médicas de opinión ⁴.

Imagen 2.



Dr. Philip Mollica

Imagen 3.



Dr. Robert Harris

En Estados Unidos, la terapia oxígeno-ozono (OOT, oxygen ozone therapy) se ha alcanzado muy lentamente debido a que no se había incluido en el plan de estudios de las escuelas odontológicas del país, hasta que en el año 2008 el Dr. Philip Mollica de Tufts School of Dentistry presentó su trabajo “*Ozone in Dental Medicine*” (Imagen 2). Antes de esta presentación las instituciones no habían recibido las investigaciones favorables de Alemania, Italia, España, Gran Bretaña, Brazil, Rusia y Cuba. En la utilización inicial de este agente un grupo de dentistas participaron en Capital University of Integrative Medicine utilizando la terapia con ozono en 1998, y a partir de esta clase ocho dentistas continuaron con la investigación de los posibles beneficios de esta terapia⁴. Un estudio fue aprobado en Capital University of Integrative Medicine por el Dr. Philip Mollica y el Dr. Robert Harris, y utilizaron este estudio como modelo de investigación basado en la evidencia intentando crear una red de investigación con sub-investigadores (Imagen 3). Después los investigadores comenzaron ofreciendo seminarios a más de 2.000 odontólogos para enseñar a usar la terapia oxígeno-ozono en el control de infecciones a nivel nacional e internacional. Las investigaciones en Estados Unidos se han basado en la práctica clínica en toda la red de clínicas⁴.

The International Academy of Oral Medicine and Toxicology ha respaldado en Odontología el uso de la terapia oxígeno-ozono ⁴.

En Estados Unidos se desarrollaron dos sistemas generadores de ozono; el Ozicure y HealOzone (*Imagen 4*). El ozono en los aparatos generadores se mide en mg/L o en ppm. El gas ozono es una de las novedades más interesantes que se han introducido en la terapia endodóncica recientemente ya que puede ser administrado en la zona de tratamiento con exactitud y precisión por medio de una máquina compacta ^{3,5}.



Imagen 4. Sistema generador HealOzone

Para poder comprender, HealOzone es un dispositivo que produce ozono por medio de un ozonogenerador (*Imagen 5*). Es un dispositivo certificado por Health Canada. Al activarlo, se inicia una bomba de vacío que establece un sello alrededor de la superficie, lo que impide la fuga de ozono a la cavidad oral, y en caso de que el sello hermético se dañe, la producción de ozono se detiene. Durante los tratamientos el ozono residual se aspira por medio de un

filtro y se reconvierte en oxígeno, siendo seguro para las regiones nasales del paciente y la faringe ⁶.

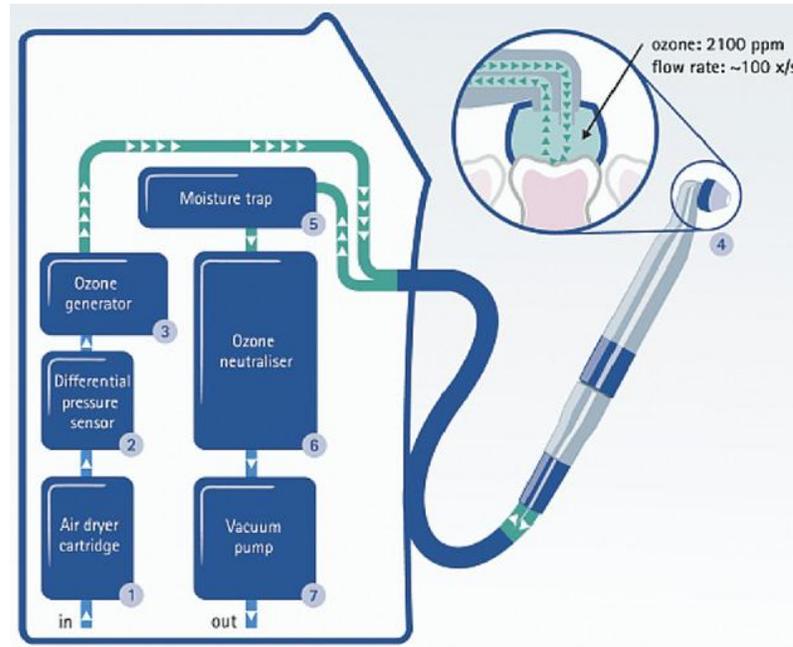


Imagen 5. HealOzone: Principio de operación

En Austria se realizó un estudio para comprobar la eficacia de Prozone, un nuevo generador de ozono de la compañía W&H en la Universidad de Salzburgo, en el Departamento de Biología Molecular (*Imagen 6*). Los resultados se publicaron en el 2010 en Dental Tribune. El estudio se realizó en cepas de *E. coli* y *S. mutans* en placas de agar, y se llegó a la conclusión de que el ozono presenta efectos a los 24 segundos de tratamiento en cepas sin crecimiento bacteriano, y en cepas con crecimiento tras 1,5 horas se redujo el número de células viables. Si se aumenta progresivamente el tiempo de aplicación de ozono, aumenta la erradicación de bacterias, total o parcial. Dado que se tomó en cuenta el tamaño de la superficie de un molar humano (5,8 mm aprox.) el efecto bactericida de Prozone puede considerarse eficaz. Y es importante mencionar que el filtro secador de aire de Prozone influye en la eficacia antimicrobiana en los tratamientos, éste

debe cambiarse cada 500 usos, y aún tras este número de usos, el aparato sigue disminuyendo el número de bacterias ⁷.

Imagen 6. Sistema generador Prozone



“El principio de funcionamiento de Prozone es el siguiente: Mediante una bomba especial se aspira aire en el dispositivo. El aire es transportado directamente a un filtro que lo limpia y extrae la humedad que pueda contener. A continuación, el aire limpio y seco es conducido al generador”, “Por la descarga de un tubo de alta tensión, la unidad produce ozono en la concentración y dosificación exacta” (Grupo W&H. TIP TOP TIPS Sàrl) ⁷ (Imagen 7).

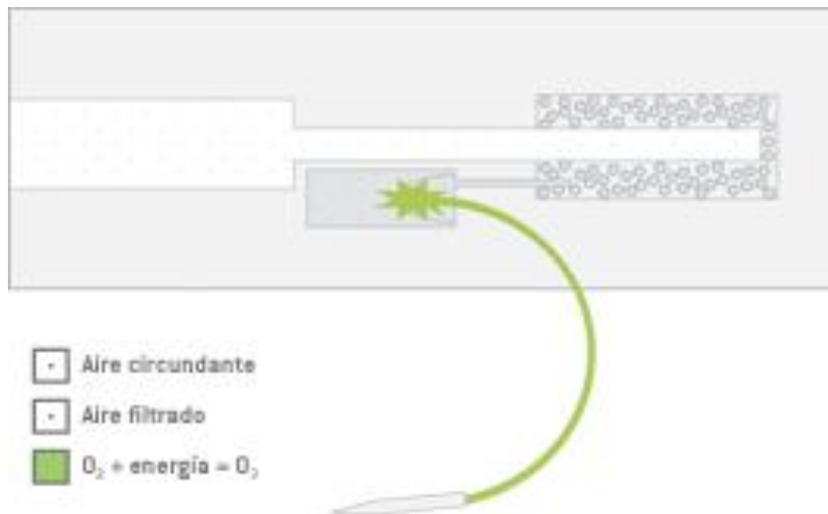


Imagen 7. Principio de Funcionamiento de Prozone

Se consideran varias ventajas en el uso de este aparato: el que sea fácil de usar, la duración de los tratamientos se acortan, no puede sobredosificarse, inmediatamente después del tratamiento el ozono se descompone en oxígeno, no requiere manipular el tiempo de actuación ya que vienen tiempos predeterminados (6", 12", 18", 24"), y su aplicación es cómoda ya que presenta puntas *Endo* para su aplicación en la desinfección del conducto radicular con una pieza de mano esterilizable ⁷ (*Imagen 8*).



Imagen 8. Pieza de mano
100% esterilizable.

Punta Endo, para la aplicación

CAPÍTULO 2

2.1 Características químicas y biológicas del ozono.

El ozono es una forma alotrópica del oxígeno (O_2) y se forma por la adición de un tercer átomo a la molécula de oxígeno, que desde el punto de vista bio-oxidativo lo torna más activo en su actuación biológica. Es un gas importante de la estratosfera en la naturaleza y se genera pasando oxígeno a través de alta tensión, siendo una forma reactiva del oxígeno (*Imagen 9*). El ozono es un gas azul que puede notarse en el aire a una concentración de 2 ppm a temperatura ambiente por su característico olor, es irritante e inestable que en descomposición produce oxígeno molecular altamente reactivo. Su estabilidad depende de la temperatura, la presión, el movimiento mecánico del agua y el material del contenedor. De acuerdo con Shechter (1973), la estabilidad del ozono es baja en agua y en libre demanda se disipa muy rápido a temperatura ambiente en 5 min. El ozono es termodinámico, oxida todos los metales no nobles inmediatamente; y ataca numerosos compuestos orgánicos. Además es un fuerte oxidante como el flúor, y tiene un alto potencial de oxidación 1.5 veces mayor que cuando se utiliza cloruro como agente antimicrobiano ^{2, 3, 8, 9}.

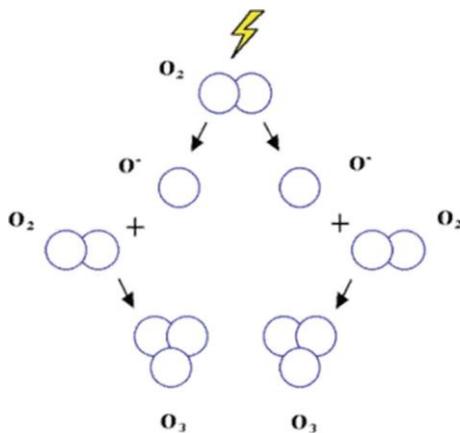


Imagen 9. Una descarga eléctrica se divide una molécula de oxígeno en dos átomos de oxígeno (descarga eléctrica también se conoce como descarga en corona). Estos átomos de oxígeno inestables se combinan con otras moléculas de oxígeno. Esta combinación forma ozono

En el medio natural se crea ozono constantemente por la influencia de la radiación ultravioleta del sol o las descargas eléctricas de los rayos con el oxígeno; también se crea en zonas en donde hay excesivo estrés físico en el agua, por ejemplo las olas de mar rompiendo en las rocas y las caídas de agua es en donde se alcanzan niveles de hasta 0,05 ppm, un punto en el que su olor característico es detectado ⁵.

Existen tres sistemas generadores de ozono artificiales: (1) Sistema Ultravioleta, con el que se generan ozono en bajas concentraciones utilizado en saunas, estética y para purificar el aire. (2) Sistema de Plasma frío: se utiliza en la purificación de aire y agua, y (3) Sistema de descarga de corona: es el sistema utilizado en el área médica y dental porque se producen altas concentraciones de ozono ^{10,11}.

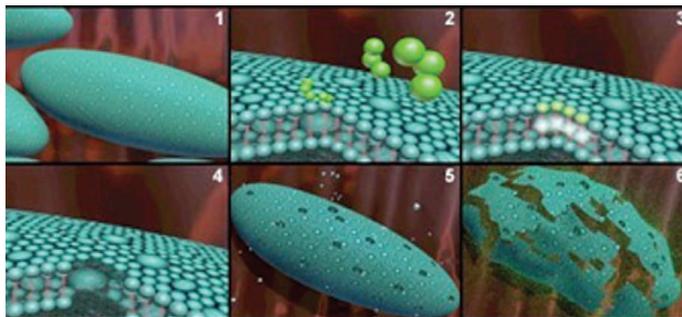


Imagen 10. Bacterias bacillus saludables. Atacadas por el ozono provoca múltiples perforaciones de la pared celular con la lisis celular rápida

Ya que el ozono actúa como bactericida natural, y es capaz de inactivar bacterias, virus, hongos, levaduras y protozoos ha sido utilizado en Medicina como una mezcla de oxígeno puro (0,05%-5%) con ozono puro (95-99,95%) (*Imagen 10*). Esta mezcla debe prepararse inmediatamente antes de su uso ya que después de su preparación en menos de una hora el 50% de la mezcla es ozono y el otro 50% es oxígeno, por lo tanto no puede



almacenarse durante periodos largos de tiempo como consecuencia de la inestabilidad del O_3 ^{5, 3}.

El ozono se ha usado en Medicina desde hace más de cien años debido a que presenta diferentes propiedades terapéuticas y antimicrobianas. Actúa destruyendo directamente casi todos microorganismos mediante sus efectos como sustancia bactericida, virucida y fungicida basados en la oxidación con formación de radicales libres³.

Medicamente se ha estudiado en enfermedades oculares, tales como glaucoma, neuropatías ópticas, obstrucción de la vena central de la retina y enfermedades degenerativas de la retina; e investigado en infecciones agudas y crónicas, enfermedades relacionadas con la edad, enfermedades isquémicas, degeneración macular, enfermedades ortopédicas y dermatológicas, renal, pulmonar, hematológico y enfermedades degenerativas³.

A nivel celular, en los eritrocitos aumenta su elasticidad y cambia las proteínas del citoesqueleto para prevenir las adherencias entre ellos y mejorar su elasticidad en su paso por capilares finos estimulando el flujo de la sangre. El ozono estimula y activa la respiración mitocondrial y otras vías metabólicas. También puede ser empleado para tratar un gran número de patologías con su poder oxidativo, es por ello que ha sido un agente terapéutico muy reconocido^{3,5}.

Las células humanas normales son protegidas de los efectos oxidativos del ozono en cantidades correctas cuando se producen radicales libres. Para lograr una respuesta inmune y una respuesta de más rápida, el ozono estimula y activa las enzimas implicadas en peróxido y la eliminación de radicales libres. Actúa atrayendo oxígeno a los tejidos y ayuda al cuerpo en su proceso de curación natural como un super-oxigenador⁵.



Además de su uso en Medicina, también es un agente potencialmente beneficioso en Odontología utilizándose como tratamiento sinérgico para eliminar bacterias y oxigenar el área de trabajo ^{3, 5}.

2.2 Modalidades terapéuticas del ozono.

Dentro del área odontológica, la Terapia de oxígeno-ozono se puede administrar intraoralmente y extraoralmente de diversas formas. Intraoralmente básicamente puede ser por inyección del gas para el tratamiento de todos los tipos de infecciones (inyección intraósea de gas oxígeno-ozono en el alveolo, subgingivalmente, intramuscular, área del nervio dentario inferior, espacio pterigoideo), irrigación con agua ozonizada para infecciones bucodentales (por ejemplo estomatitis herpética, lesiones e infecciones periodontales, es decir, subgingivales), insuflación de gas (generalmente utilizado para caries, infecciones periodontales y tratamientos endodóncicos) y aplicación tópica de aceite ozonizado. Se ha desarrollado una técnica con cubetas de silicona en las arcadas para el tratamiento de caries, enfermedades periodontales y osteonecrosis por bifosfonatos. Extraoralmente se realizan aplicaciones nasales e insuflación en el oído, inyecciones temporomandibulares, inyecciones en puntos gatillo e inyecciones en linfáticos craneofaciales ^{4, 8}.

Endodóncicamente el ozono se ha utilizado para la desinfección de conductos mediante insuflación de gas y aplicación tópica oleosa. La administración en la modalidad de irrigación con agua ha sido menos empleada, pudiéndose deber a la inestabilidad presente. Sechi y colaboradores indicaron que el aceite de girasol ozonizado (Oleozon) puede utilizarse para desinfectar los conductos radiculares y limpiar los desechos necróticos por sus propiedades efervescentes ^{4, 8} (*Imagen 11*).

Imagen 11. Oleozon.
Hidroxihiperóxidos de triglicéridos
insaturados como oxígeno activo



2.3 Ventajas y desventajas sobre el uso del ozono.

Ventajas del uso del ozono:

- Sus múltiples aplicaciones en las diferentes ramas de la Medicina y Odontología. Los estudios científicos que se han realizado demuestran que el ozono puede tener uso potencial en el área odontológica ^{2,3}.
- Su uso tiene muy pocos o ningún efecto colateral, si se usa en las dosis indicadas para el tratamiento requerido ².
- El ozono demuestra biocompatibilidad con las células epiteliales orales, células del periodonto y fibroblastos gingivales, esto se ha comprobado realizando estudios *in vitro* ^{3,2,9}.
- El uso del ozono resulta una forma terapéutica fácil y sin dolor para el paciente ³.
- Al realizar la succión del ozono cerca del diente aislado se evita la inhalación por el paciente y el operador, y su difusión en la atmósfera (Millar, Hodson, 2007) ⁵.

- Estudios realizados en el 2009 han demostrado que el ozono puede funcionar como un acondicionador en la dentina de los conductos radiculares antes de realizar una obturación con cementos selladores a base de resina. Se demostró un aumento en la adhesión de los selladores AH plus y EZ-Fill, siendo mejor en AH Plus, obteniendo una mejor fuerza de unión del sellador a la dentina y una disminución en la microfiltración, además parece que la elevada adhesión del sellador aumenta ligeramente la resistencia a la fractura en dientes con tratamiento endodóncico ¹² (*Imagen 12*).

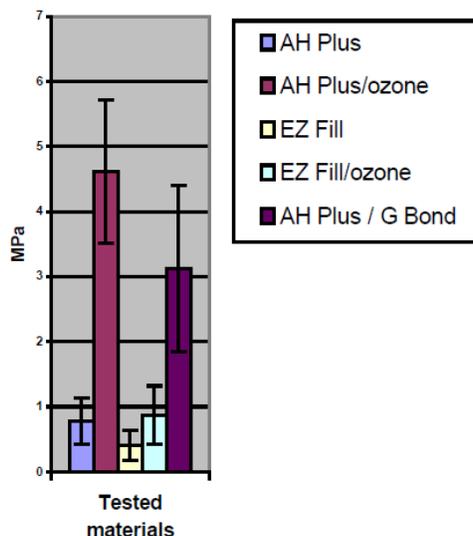


Imagen 12. Resistencia adhesiva.

Las pruebas de resistencia al corte se realizaron en una máquina universal de ensayos Hounsfield H5KS. La fuerza de unión se refiere a la fuerza por unidad de área requerida para romper la unión entre el adhesivo y la dentina y se mide en megapascales (MPa), es decir, en Newtons por milímetro cuadrado.

- En evaluaciones radiográficas se muestra una curación significativa y acelerada en infecciones apicales crónicas en un plazo de 3 a 6 meses debido posiblemente a la estimulación de una respuesta antioxidante que libera radicales libres y a la desinfección bactericida y fungicida. Además elimina el olor asociado a infecciones crónicas anaerobias ⁵ (*Imagen 13*).



Imagen 13. Aparato generador OzoTop, con el cual se mostró una curación significativa.

Imágenes radiológicas después de haber realizado un tratamiento con ozono a los 6 meses ⁵ (*Imágenes 14 y 15*):



Imágenes radiológicas después de haber realizado dos tratamientos diferentes con ozono a los 4 meses respectivamente ⁵ (*Imágenes 16 y 17*):

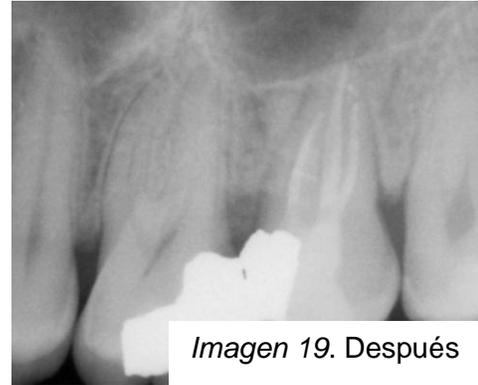


Imagen 16. Antes y después



Imagen 17. Antes y después

Imágenes radiológicas después de haber realizado un tratamiento con ozono a los 3 meses ⁵ (*Imágenes 18 y 19*):



- El ozono elimina el olor asociado a infecciones crónicas anaerobias ⁵.

Desventajas del uso del ozono:

- El ozono presenta ciertas limitaciones en su uso, es irritante para el sistema respiratorio al momento de inhalarlo debido a que el revestimiento del tracto respiratorio es muy delgado, y contiene una cantidad mínima de antioxidantes que hace que las células mucosas sean extremadamente vulnerable a la oxidación. Mc. Donnell (1983) indicó que en concentraciones de 0,2 a 0,5 ppm, es decir, muy bajas puede causar efectos secundarios como dolor de cabeza, irritación o sequedad en la nariz y vías respiratorias altas, garganta, ojos, enrojecimiento ocular, dolor, visión borrosa, náuseas y vómitos ocasionales. En concentraciones de 1 a 10 ppm puede producir congestión, edema, hemorragia, cambios en la sangre, pérdida de la capacidad pulmonar o hasta cáncer de pulmón. Aunque es importante mencionar que las complicaciones por ozono son en general poco frecuentes. En caso de que existiera una intoxicación, el paciente deberá



inhalar oxígeno húmedo en posición supina, y tomar vitamina E, ácido ascórbico y N-acetilcisteína ^{1, 3, 13}.

- Es importante tener en cuenta que se pueden provocar embolias gaseosas con las inyecciones de ozono/oxígeno, pudiendo tener consecuencias fatales ^{8, 13}.
- Todos los materiales que pueden tener contacto con el ozono deben ser resistentes a la oxidación que éste produce, por ejemplo el vidrio, el tereftalato de polietileno (PET), el teflón y el silicio ^{3, 14}.
- EL ozono necesita ser preparado en el momento de su utilización, es decir, cerca del área de trabajo ya que presenta poca estabilidad al transformarse nuevamente en oxígeno ^{2, 3, 1, 14}.
- Existe una necesidad de obtener niveles más altos de evidencia del ozono con estudios bien diseñados y ensayos clínicos aleatorizados para poder justificar su uso rutinario en tratamientos odontológicos. Es por esta razón que no ha alcanzado en su uso la suficiente eficacia y rentabilidad ^{3, 8}.
- Aunque el gas de ozono ya tiene uso en tratamientos endodóncicos, los resultados en los estudios han sido inconsistentes y no se tiene la suficiente información sobre el tiempo de aplicación más adecuado y la concentración efectiva en la que debe usarse ³.

2.4 Indicaciones y contraindicaciones sobre el uso del ozono.

Indicaciones del uso del ozono:

Ya se ha reconocido internacionalmente el uso del ozono en Odontología con aplicación en tratamientos exitosos de caries dental reduciendo el recuento de bacterias en lesiones cariosas y deteniendo así su progresión, también ha tenido aplicación en periodoncia en diagnósticos de periodontitis crónica como antiséptico para el control de placa (*Imagen 20*), en estomatitis, alveolitis y en diversas cirugías bucales con heridas difíciles de sanar después de las intervenciones quirúrgicas, se utilizó para promover la hemostasia, para mejorar el suministro de oxígeno e inhibir el suministro de bacterias; en la desinfección de prótesis dentales e implantes (*Imágenes 21 y 22*), micosis, cicatrización de heridas crónicas, aftas, deficiencias después de la radioterapia, osteomielitis, osteonecrosis inducida por bifosfonatos y lesiones de estomatitis herpética, en infecciones dentales relacionadas con sinusitis, neuralgias, hipersensibilidad pulpar, extracciones, y sintomatología en la articulación temporomandibular (ATM) ^{9, 3, 4, 2}.



Imagen 20 Periodoncia

Imágenes 21 y 22. Periimplantitis

Ebensberger indica que en reimplantes de dientes avulsionados se utiliza el ozono para descontaminar la superficie radicular con dos minutos de



irrigación con agua ozonizada no isotónica, limpiando mecánicamente y descontaminando la superficie radicular sin ningún efecto colateral en las células del periodonto que quedan adheridas en la superficie radicular expuesta. El ozono tiene futuro en la reimplantación o trasplantación en virtud de la tasa de proliferación con su uso ^{3,11}.

El ozono en endodoncia se centra en un alto efecto antimicrobiano minimizando al mismo tiempo el daño en los tejidos periapicales. En modelos de investigación in vitro actuó en contra de *Micobacteria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Nagayoshi demostró un efecto eficaz en contra de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Se observó una disminución de estas bacterias en los túbulos dentinarios. Se ha demostrado la efectividad del ozono como desinfectante de conductos radiculares y túbulos dentinarios, así como medicamento intraconducto de acción prolongada ³.

En cuanto a la concentración de ozono en el ambiente a nivel odontológico se indican normas de seguridad para los operadores: respirando normalmente, la cantidad de ozono en los pulmones será en una concentración de 0.3 ppm (0,6 mg/m³) durante 15 minutos. Dentro del consultorio de 10 m³ se permiten 0.1 ppm (0,2 mg/m³ ó 2 mg) de ozono durante 8 horas ⁵.

Contraindicaciones del uso del ozono:

El ozono presenta contraindicaciones cuando en su aplicación en el área médica penetra al organismo. Está contraindicado el uso de ozono en pacientes con las siguientes características ^{3,11,8}.

- Embarazo



-
- Asma
 - Intoxicación alcohólica aguda
 - Antecedentes de infarto reciente
 - Deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa
 - Hipertiroidismo
 - Anemia
 - Miastenia
 - Trastornos de la coagulación
 - Hemorragia

En el área odontológica, específicamente en la desinfección de conductos radiculares no tiene mayor daño contralateral, ya que no penetra por los tejidos al organismo, es decir, se mantiene en la cámara pulpar coronal y radicular, y una dosis reducida alcanza los tejidos periapicales. Si el ozono es inhalado puede ser muy agresivo para los alvéolos pulmonares, en la aplicación endodóncica se utilizan dosis y concentraciones mínimas por lo que no tiene repercusiones sistémicas^{2, 3, 11}.



2.5 Mecanismo de acción del ozono en la desinfección de conductos radiculares.

El efecto antimicrobiano del ozono se logra mediante su acción como agente irritante, resultado de la oxidación de los componentes celulares de los microorganismos⁹.

El proceso en el que se extraen electrones de un átomo o molécula se denomina oxidación. Si ocurren varias oxidaciones biológicas se produce la pérdida de átomos de hidrógeno, es decir, reacciones de deshidrogenación. Como ya es sabido, las células aerobias necesitan oxígeno para su supervivencia, este tipo de respiración genera ATP por medio de fosforilación-oxidativa y los aceptores finales de electrones incluyen iones sulfato, iones nitrato y iones carbonato. En el caso de microaerófilos y bacterias anaerobias, el oxígeno es dramáticamente tóxico al estar desprovistas de enzimas que proveen protección ante la presencia de oxígeno. En el proceso de fermentación, las bacterias anaerobias usan compuestos orgánicos para aceptar oxígeno durante su enérgico metabolismo^{9, 15}.

El ozono en infecciones primarias, podría ser capaz de matar todas las bacterias anaerobias, Gram negativas por su toxicidad. Aunque, no se sabe si el oxígeno se comporta de la misma forma en infecciones secundarias, en donde predominan bacterias facultativas, Gram positivas. En el caso de procesos patológicos supurativos, las bacterias anaerobias al infectar crean un área ácida con cargas positivas en los fluidos, el gas de oxígeno-ozono al ser el tercer oxidante más fuerte, lleva una carga negativa siendo atraído por la carga positiva del entorno infectado y electroquímicamente mata a los microorganismos patógenos logrando la desinfección^{9, 4}.



La acción oxidante del ozono a nivel celular provoca la destrucción de paredes celulares y membranas citoplasmáticas de bacterias y hongos, atacando glicoproteínas, glucolípidos, aminoácidos e inhibe el control de enzimas de la célula. Esto aumenta la permeabilidad de la membrana, punto clave de la viabilidad de los microorganismos y conduce a la muerte cuando las moléculas de ozono entran al microorganismo. El ozono inactiva las bacterias y los virus por lisis celular (Nagayoshi, Fukuizumi 2004), puede haber una participación directa de reacciones del ozono molecular y otra libre mediada por radicales de reacciones producidos por el ozono. Los dos mecanismos pueden estar implicados en la destrucción de las bacterias. En cambio el hipoclorito de sodio (2.5 a 5.25%) requiere su difusión para desactivar las enzimas, causando la destrucción celular ^{3, 1, 5}.

En resumen, a nivel bacteriano el ozono oxida lípidos y lipoproteínas componentes de las membranas cambiando las configuraciones químicas normales, con esto provoca que la arquitectura bacteriana sea incompatible ^{11, 13}.

En los virus produce el cambio de cápside dañando las proteínas de la envoltura y cadenas de polipéptidos, y la envoltura lipídica, además destruye el ADN viral de manera irreversible. El ozono interactúa con las proteínas de virus desnudos, formando hidróxidos de proteínas y los peróxidos ^{3, 11, 13}.

En hongos y protozoos inhibe el crecimiento celular en ciertas etapas. ¹³

Cabe mencionar que el ozono ataca también biomoléculas como la histidina, la metionina, la cisteína y residuos de proteínas; oxida las biomoléculas presentes en enfermedades dentales resultando en la eliminación de bacterias cariogénicas. Estas bacterias producen ácido pirúvico durante la cariogénesis, y el ozono descarboxila al ácido pirúvico en ácido acético ayudando en la amortiguación de la placa ³.



El uso del ozono en contra de la microbiota endodóncica sigue sin estar claro, es decir, el tiempo ideal para lograr su eficacia y su profundidad de acción en los túbulos dentinarios. Pero es bien sabido que en conceptos modernos los agentes de control antimicrobiano deben actuar contra diversos tipos de bacterias, ya sea aerobias, anaerobias o microaerófilas, alterar la permeabilidad de la membrana citoplasmática, afectar la síntesis de la pared celular e interferir en la replicación cromosómica o síntesis de proteínas⁹.

2.6 Unión del ozono a vehículos y medicamentos de acción prolongada.

Debido a que las bacterias son las causantes de procesos patológicos del tejido pulpar, algunos autores realizaron una evaluación a varios antisépticos para valorar su efecto bactericida con la tentativa de hallar una sustancia con la capacidad de eliminar las bacterias de los conductos radiculares infectados sin provocar daños en los tejidos circundantes. En los primeros estadios de las infecciones pulpares se pueden encontrar microorganismos predominantemente aerobios y mientras avanza la infección al tercio medio se encuentran bacterias aerobias y bacterias anaerobias facultativas, en el tercio apical predominan microorganismos anaerobios estrictos^{9, 2}.

Un medicamento intraconducto ideal debe ser capaz de neutralizar la virulencia de los microorganismos y sus factores patógenos (proteínas, enzimas, toxinas) presentes en cualquier infección pulpar, y debe de inducir una respuesta que favorezca la cicatrización del tejido periapical. Se ha demostrado que el uso de medicamentos intraconducto disminuye la infección de los conductos radiculares. Las funciones de un medicamento intraconducto incluyen primeramente la actividad antimicrobiana, secundariamente debe permitir la formación de tejido duro, debe penetrar



fácilmente en los conductos y en los túbulos dentinarios, no debe irritar a los tejidos periapicales, debe controlar la resorción, el dolor y el exudado, no debe provocar pigmentaciones dentales, no debe verse afectado por el material orgánico, debe ser radio-opaco y de fácil colocación y remoción^{9, 16, 17}.

Una manera de controlar la descomposición del O₃ en oxígeno es asociándolo a vehículos o medicamentos intraconducto. Los vehículos pueden ser acuosos o viscosos, en un vehículo acuoso se promueve una conversión más rápida y por el contrario, en uno viscoso se retarda la conversión³.

Para buscar la efectividad de esta asociación, científicos y endodoncistas clínicos han realizado amplios estudios sobre varias sustancias que son utilizadas en endodoncia con la capacidad de combatir los microorganismos presentes en los sistemas de conductos radiculares, con el intento de encontrar el medicamento ideal en desinfección. Siqueira evaluó la acción antimicrobiana de varios medicamentos combinados con el ozono en contra de bacterias con resistencia o bacterias desconocidas para observar si era posible encontrar un antibiótico ideal mediante un test de sensibilidad antimicrobiana².

El hidróxido de calcio (Ca(OH)₂) es uno de los medicamentos intrarradiculares más utilizado debido a que ha sido ampliamente estudiado y a que es un medicamento de acción prolongada. El Ca (OH)₂ a través de su pH alcalino es generalmente muy eficaz en la erradicación de bacterias intrarradiculares. Desafortunadamente, no es tan efectivo cuando se usa a corto plazo y no se recomienda como un irrigante sino más bien como un apósito entre citas. Para lograr una actividad antimicrobiana óptima se requiere una exposición prolongada. Su eficacia puede basarse en el tipo de vehículo utilizado. Estudios también han demostrado que existen microorganismos con resistencia a este medicamento, un ejemplo es el *E.*



faecalis, por lo cual Ortega agregó un producto derivado del fenol al hidróxido de calcio en una evaluación in vitro intentando erradicar estos microorganismos, el paramonoclorofenol alcanforado, en donde el alcanfor sirve de vehículo y como diluyente reduciendo el efecto irritante del paramonoclorofenol puro y también prolonga el efecto antimicrobiano, pero no resultó ser muy efectivo. La persistencia de microorganismos positivos aun después de la conformación de los sistemas de conductos, la desinfección con irrigantes y el uso de hidróxido de calcio como medicamento intraconducto justifica la investigación de otras sustancias antimicrobianas ^{2, 18, 9, 16}.

El objetivo de mezclar ozono con hidróxido de calcio y al hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado fue elevar el potencial antimicrobiano de los medicamentos. El hidróxido de calcio no tuvo variación al mezclarlo con ozono en los resultados sobre *P. aeruginosa*, y sobre *E. faecalis*, el efecto antimicrobiano incrementó a partir del 15° día, aunque los resultados se pueden ver alterados por la inconsistente incorporación del ozono al hidróxido de calcio ².

Los resultados de la mezcla del hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado y ozono, demostraron una disminución en su acción antimicrobiana. Pero también puede intervenir alguna alteración de la mezcla, por ejemplo la evaporación del cloro o la reacción química del paramonoclorofenol alcanforado con el ozono, sufriendo oxidación y formando catecol o degradándose en ácido oxálico más ácido fórmico ².

Estrela usó cultivos puros de *P. aeruginosa* una bacteria Gram negativa y aerobia, *E. faecalis* y *Escherichia coli*, dos bacterias anaerobias facultativas para analizar el efecto de hidróxido de calcio en dos pastas, una unida a paramonoclorofenol alcanforado y otra a suero. Se demostró que ambas pastas fueron eficaces contra las bacterias antes mencionadas, con

diferentes halos de inhibición de crecimiento. *E. faecalis* es una bacteria aerobia facultativa que se ha obtenido de los conductos radiculares con relativa frecuencia, asociada con lesiones perirradiculares persistentes. Los *Enterococcus SP* pueden causar infecciones difíciles de tratar por su resistencia a diversos agentes antimicrobianos. También se considera a *P. aeruginosa* una bacteria aerobia, difícil de erradicar ya que es altamente resistente ².

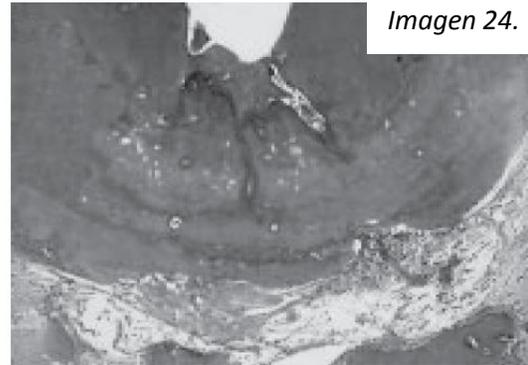
En el caso de la utilización de vehículos oleosos, el Centro Nacional de Investigación en Cuba (CNIC) ha utilizado el aceite de girasol ozonizado como medicamento intraconducto obteniéndose una tasa de éxito del 77% en los tratamientos pulpares frente al hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado y glicerina en donde se obtuvo un 74% de éxito (*Imágenes 23 y 24*). Siqueira Jr. probó el uso del aceite ozonizado en un estudio in vitro mostrando su efectividad frente a *E. faecalis* comparado con el hidróxido de calcio, en donde el aceite ozonizado fue el medicamento más eficaz contra especies bacterianas. Pereira lo estudió in vivo en dientes de perros con lesión periapical inducida con *E. faecalis*, sin mostrar diferencia significativa en comparación con el hidróxido de calcio con paramonoclorofenol alcanforado ^{2, 16}.

Imagen 23.



Observación tras 2 visitas con
Ca(OH)₂/paramonoclorofenol
alcanforado/glicerina.

Imagen 24.



Observación tras 2 visitas con
aceite ozonizado como
medicación intraconducto.



Se concluyó que el aceite ozonizado puede ser utilizado como medicamento intraconducto. En la hidrólisis del aceite ozonizado se producen aldehídos, cetonas y peróxido de hidrógeno, el cual actúa como oxidante de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos ¹⁶.

El aceite de oliva ozonizado por su pureza química podría ser un buen vehículo para el ozono, aunque no se tiene información específica con respecto a su elaboración. En comparación con el aceite de girasol, el aceite de olivo presenta menor afinidad por el ozono, con esto se confirman los estudios de Contreras en el CNIC ².

Está demostrado que el uso del aceite ozonizado es efectivo, pero se cree que pudieran usarse sustancias vehículo más viscosos, mucho más fáciles de remover de los conductos radiculares y con mayor difusión. Cruz realizó un estudio comparativo en dentina humana sobre la difusión entre el agua y el propilenglicol, demostrando que el propilenglicol es de alta difusión ^{2,3}.

El propilenglicol es un líquido inodoro, incoloro, viscoso, hidrofílico, volátil, higroscópico, no irrita la piel, altamente usado en industrias farmacéuticas como vehículo de medicamentos antimicrobianos, tópicos, digestivos, rectales y parenterales. Además, el propilenglicol tiene afinidad por el ozono, su actividad está determinada por el tiempo y podría ser más estudiado ya que el propilenglicol ozonizado ha demostrado efectividad como medicamento intrarradicular hasta lograr todas las condiciones ideales para su uso clínico en endodoncia ².

En orden de afinidad y efectividad con el ozono, el propilenglicol es más afine, seguido del propilenglicol con hidróxido de calcio, el aceite de girasol y el aceite de oliva. Los medicamentos que no tienen acción sinérgica con el ozono son el hidróxido de calcio y el hidróxido de calcio alcanforado por falta de capacidad de asociación o su unión no potencializa la acción antimicrobiana (Ortega, 2008) ² (Tablas).



Con respecto al uso de medicamentos intraconducto, en un estudio (Silveira, Lopes, Siqueira, Macedo, Consolaro, 2007) se observó la respuesta de los tejidos periapicales en el tratamiento endodóncico de los conductos radiculares infectados realizandolo en una sola visita y en dos visitas con el uso de dos modalidades de medicamento intraconducto, se demostró que los conductos tratados en una sola visita tuvieron una tasa de éxito del 46%. El análisis histobacteriológico reveló la presencia de bacterias en las superficies del conducto radicular y a veces dentro de los túbulos dentinarios. La tasa de éxito aumentó considerablemente con la medicación intraconducto tras dos visitas. Sin usar medicamentos se realizaron los tratamientos pulpares en dos citas y los tejidos perirradiculares estaban libres o con una leve inflamación. Se concluyó que la reparación perirradicular se ve favorecida con el uso de medicamentos intraconducto en varias citas ¹⁶.

Media de la medición de los halos de inhibición, en milímetros, producidos por los materiales evaluados en las tres placas sembradas con *P. aeruginosa*, en cada período de tiempo después de la ozonización. (R: resistente)

<i>P. aeruginosa</i>						
Nº	Materiales	1 D	7 D	15 D	30 D	180 D
1	Aceite de oliva ozonizado	R	R	R	R	R
2	Aceite de girasol ozonizado	R	R	R	R	R
3	Calen PMCC	22,0	21,3	20,7	21,7	21,3
4	Calen PMCC ozonizado	20,7	19,3	20,3	20,7	20,3
5	Calen ozonizado	11,3	12,0	11,3	11,3	11,3
6	Calen	11,3	12,0	11,0	10,7	10,3
7	Propilenoglicol ozonizado	10,3	13,0	12,3	13,0	13,0
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) ₂	9,3	11,0	10,7	10,7	10,3
9	Propilenoglicol	R	R	R	R	R
10	Aceite de girasol	R	R	R	R	R
11	Aceite de oliva	R	R	R	R	R



Media de los halos de inhibición, en milímetros, producidos por los materiales evaluados en las tres placas sembradas con *E. faecalis*, en cada período de tiempo después de la ozonización. (R: resistente)

<i>E. faecalis</i>						
Nº	Materiales	1 D	7 D	15 D	30 D	180 D
1	Aceite de oliva ozonizado	8,7	8,3	8,7	6	6
2	Aceite de girasol ozonizado	10,7	10,3	10,7	8,3	8
3	Calen PMCC	11,3	11,3	11,3	10	10
4	Calen PMCC ozonizado	9,3	9	9,3	9,7	9,7
5	Calen ozonizado	6	6	6	6	6
6	Calen	6	6	6	6	6
7	Propilenoglicol ozonizado	11,3	11,3	11	9,3	9,7
8	Propilenoglicol ozonizado+ Ca(OH) ₂	8,7	8,7	7,3	7,7	7,7
9	Propilenoglicol	R	R	R	R	R
10	Aceite de girasol	R	R	R	R	R
11	Aceite de oliva	R	R	R	R	R

Tablas ².

CAPÍTULO 3

3.1 Requerimientos de una solución irrigante antimicrobiana.

La irrigación es un valioso auxiliar en la preparación del conducto radicular, y aunque se define como procedimiento auxiliar, las soluciones irrigantes son coadyuvantes en todos los tratamientos pulpares. Sus objetivos son la eliminación de microorganismos patógenos, consecuentemente el tejido pulpar vital o necrótico y la limalla dentinaria por acción química y mecánica. Byström & Sundqvist indican que los irrigantes apoyan en la desinfección de superficies no instrumentadas, y estudios han demostrado que la instrumentación biomecánica de los conductos radiculares no es suficiente para desinfectarlos, se requieren sustancias irrigantes (*Imagen 25*).^{19, 1, 15}.

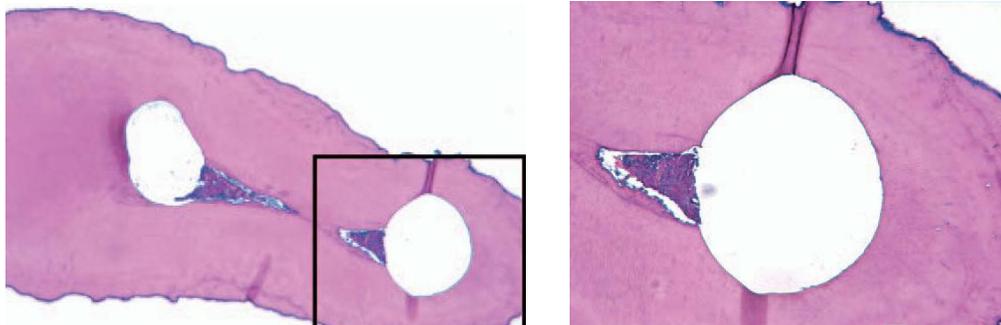


Imagen 25. Tejido remanente potencialmente infectado en las aletas del conducto y el istmo. Observación después de la preparación con instrumentos rotatorios. A, Sección del tercio medio de la raíz mesial de un molar inferior. B, vista ampliada de rectángulo en A. Obsérvese la presencia de tejido blando en la zona del istmo ($\times 63$). (Cortesía Profesor H. Messer).

Existen diversos tipos de irrigantes que han sido probados y utilizados en tratamientos pulpares a lo largo del tiempo. Se han realizado investigaciones con la idea de encontrar soluciones con un efecto antimicrobiano, limpieza



óptima y un efecto tisular positivo en lo que a los tejidos adyacentes respecta. Una lista parcial de estos debiera incluir: agua destilada, la solución salina isotónica, el hipoclorito de sodio, soluciones anestésicas, yoduro de yodina potásica, agentes con base fenólica, el ácido cítrico, el peróxido de hidrógeno, peróxido de urea, peróxido de carbamida, gluconato de clorhexidina, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), etilendiaminotetraaceto sódica, el hidróxido sódico, el bromuro cetiltrimetilamónico y el EDTA en solución acuosa (REDTA). Todos estos agentes poseen características propias, ventajas y desventajas, y pautas para una técnica de manipulación correcta. Cuando se lleva a cabo un protocolo de irrigación en un tratamiento endodóncico pueden ser utilizadas varias de estas sustancias químicas auxiliares como irrigante único o en combinación, con sus indicaciones y contraindicaciones respectivamente para erradicar la microbiota endodóncica. El irrigante ideal será aquel que cumpla importantes funciones físicas y biológicas en el tratamiento endodóncico ¹⁷.

La idea de combinar varios irrigantes es con la finalidad de matar todas las bacterias posibles y neutralizar los productos bacterianos, desinfectar y limpiar superficies inaccesibles para los instrumentos endodóncicos, disolver tejidos orgánicos y necróticos, eliminar partículas de desechos, lubricar los conductos para facilitar el paso del instrumento y su capacidad de corte, y lograr la apertura de los túbulos dentinarios al remover el barrillo dentinario evitando irritar los tejidos adyacentes finalmente ^{18, 19, 20}.

REQUISITOS DE LAS SUSTANCIAS QUÍMICAS AUXILIARES

Humectación

Para que sea una sustancia potente deberá tener elevada humectación para dispersarse por toda la



	superficie radicular.
Tensión superficial	Se relaciona en gran medida con las propiedades de la sustancia para penetrar y la cualidad de contacto.
Tensoactividad	Se relaciona con la disminución de la tensión superficial del componente pulpar para que éste sea homogeneizado.
Propiedades bactericidas	Las sustancias químicas deberán promover la eliminación de la mayor parte de la infección del sistema de conductos radiculares, y no solo su inactivación.
Biocompatible	Deberá promover la reparación de los tejidos periapicales para restablecer las funciones del órgano dental. Aun siendo una sustancia bactericida e irritante deberá ser capaz de promover el proceso de reparación. No debe ser tóxico.
Lubricante	Para evitar que el barrillo dentinario disminuya la eficiencia del corte del instrumento. Eleva la posibilidad de que se fracture un instrumento.
Efervescencia y acción disolvente	Se liberan gases en un medio acuoso logrando una suspensión de la suciedad y evitando su transporte a la zona apical. Disolver tejidos orgánicos e inorgánicos.

[21, 22]

“No existe una solución irrigadora ideal, por lo que se deberán combinar dos o más para conseguir los objetivos mencionados” (Canalda, 2001) ²⁰.

El irrigante de primera elección es el hipoclorito de sodio (NaOCl) debido a que es una solución antibacterial eficaz y a que disuelve tejidos orgánicos. Es de gran uso en endodoncia ya que posee un amplio espectro contra microorganismos endodóncicos y biofilms incluyendo la microbiota difícil de eliminar de los sistemas de conductos radiculares, como *Enterococcus*, *Candida albicans* y *Actinomyces* ¹⁸.

En tratamientos endodóncicos el hipoclorito de sodio se utiliza en concentraciones que van desde 0,5% hasta 6%. Si se utiliza NaOCl al 6% en 1 minuto es eficaz contra *Candida albicans*, en una concentración de 1% requiere de 1 hora para erradicarla, mientras que *E. faecalis* solo necesita una concentración de 0,25% y 15 minutos para ser erradicado. En concentraciones bajas, es decir, de 0,5% a 1% es capaz de disolver tejido necrótico, aunque en concentraciones altas (6%) consigue una mejor disolución de tejido tanto necrótico como vital. El Clorox está disponible en el mercado, contiene NaOCl al 6,15%, y presenta un pH alcalino de 11,4 (*Imagen 26*). Algunos autores recomiendan diluirlo con agua para obtener soluciones menos concentradas y disminuir el pH, según el caso presentado. También se recomienda que junto con el hipoclorito de sodio se utilicen agentes desmineralizantes para eliminar la capa de barrillo postinstrumentación, ya que el NaOCl elimina mínimamente los desechos de dentina ¹⁸.



En la producción del blanqueador Clorox: Una solución del 6% de hipoclorito de sodio se combina con agua.



El NaOCl aunque es potente, puede ser tóxico en altas concentraciones y puede debilitar la dentina reduciendo su resiliencia, su resistencia a la flexión, haciendo más fácil su deformación e inclusive lo vuelve susceptible a posibles fracturas cuando se utiliza en periodos largos de tiempo. Se demostró que en una exposición de 24 minutos con hipoclorito de sodio al 2,5 %, se redujo la resistencia a la flexión sin alterar el módulo elástico ^{18, 1}.

La solución de hipoclorito de sodio al entrar en contacto con el agua se degrada en ácido hipocloroso e hidróxido de sodio. El ácido hipocloroso es detergente transformando ácidos grasos en jabones solubles, deshidrata y solubiliza proteínas. El ácido hipocloroso al disociarse forma ácido clorhídrico liberando oxígeno electrónicamente activado que es capaz de romper cadenas de ADN y es extremadamente bactericida. Provoca efervescencia y rompe las membranas bacterianas, logrando la actividad bactericida de éste. El ácido hipocloroso en un medio ácido no se disocia y es potencialmente más bactericida, por el contrario, en un medio básico es menos bactericida; pero el cloro en condiciones ácidas es menos estable, inviabilizando su utilización a menos de que se encuentre un pH mínimo de 7 ²¹.

El daño causado por el ácido hipocloroso en los lípidos o proteínas de membranas establece la lisis de las células. Las reacciones entre los lípidos y el ácido hipocloroso depende de las circunstancias, es decir, el pH y la presencia de radicales libres (hidroperóxidos preformados) capaces de causar la lisis por el proceso de lipodperoxidación ²³.

Para Gomes el hipoclorito de sodio al 3% ha tenido poca eficacia contra microorganismos altamente patógenos en infecciones persistentes, y la clorhexidina al 2% ha demostrado resultados inconsistentes. Cabe mencionar que el hipoclorito de sodio al 5,25% es la solución más utilizada en la desinfección de conductos, alternada con H₂O₂ al 3% ¹⁴.



Hems en el 2005 evaluó la acción del ozono frente a *Enterococcus faecalis* y verificó que su actividad no era comparable con la eficacia antibacterial del NaOCl ⁹.

Restaino (1995), Paraskeva y Graham (2002), informan que el ozono podría ser utilizado como antiséptico de alta potencia antimicrobiana sin resistencia a fármacos. Actualmente HealOzone, de Kavo (Alemania) utiliza clínicamente en endodoncia el gas ozono en una concentración de 4 g -3, aunque no ha habido resultados consistentes en estudios sobre su actuación contra microorganismos patógenos y existe poca información sobre su mejor aplicación, concentración y tiempo requerido para ser utilizado (Nagayoshi (2004), Arita (2005), Bezrukova (2005) y Hems (2005)) ¹⁴.

La concentración de 4g -3 ha demostrado una ligera menor citotoxicidad que el hipoclorito de sodio al 2,5%, y el ozono en solución acuosa a 20 g ml no mostró ninguna toxicidad en las células orales ¹⁴.

El ozono muestra una elevada biocompatibilidad con las células epiteliales orales, células gingivales y células periodontales. En la irrigación con ozono sobre el ligamento periodontal no se revela un efecto negativo (Fukuizumi 2004, Kshitish 2010). Huth sugiere que el ozono tiene propiedades antiinflamatorias en su forma acuosa sobre el sistema NF-kB, piensa que es de importancia primaria en la regulación inflamatoria en la zona periodontal-periapical ^{24, 11}.

En un estudio realizado en el 2011 se comparó el uso de ozono gaseoso y acuoso con hipoclorito de sodio al 3% en contra de *E. faecalis* como marcador biológico. Se concluyó que el ozono acuoso y NaOCl al 3% redujo fenotipos planctónicos, mientras que el ozono gaseoso redujo en forma planctónica y mínimamente en biofilms. Tomando en cuenta que *E. faecalis* persiste en los túbulos dentinarios siendo resistente al hidróxido de calcio, es

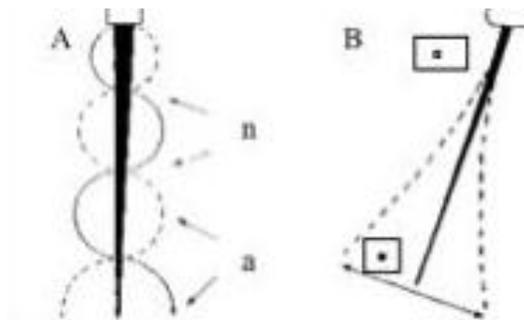
lógico pensar en que los irrigantes antibacterianos tienen que penetrar en las superficies no instrumentadas ²⁵.

Se propuso el uso del ozono en la desinfección de conductos en forma acuosa o gaseosa pero como irrigación final, después de la limpieza convencional del sistema de conductos con NaOCl, conformación e irrigación ya que se considera más eficaz cuando hay menor cantidad de tejido orgánico. El líquido ozonizado en los conductos deberá agitarse con ultrasonido, y será eficaz sólo si se utiliza en suficiente concentración, en tiempo adecuado y si se distribuye correctamente. Cardoso concluyó que si se utiliza ozono acuoso como solución irrigante puede disminuir el número *E. faecalis* y *C. albicans*. Para Nagayoshi después de la irrigación con agua ozonizada, la viabilidad de *E. faecalis* y *S. mutans* disminuyó cuando se irrigó con sonicación, el agua ozonizada (4 ppm) tenía casi la misma actividad antimicrobiana que el hipoclorito de sodio al 2,5% ^{24, 26}.

Se ha demostrado por medio de estudios que los efectos bactericidas de los irrigantes aumentan con el uso de ultrasonidos ²⁶.

La energía ultrasónica es generada por una alta frecuencia de sonido, producida por la alternancia de altas y bajas ondas de presión. Se forman miles de millones burbujas pequeñas en la solución de limpieza creando una alta turbulencia en las superficies, así es como se desprende, disuelve o suspende la suciedad ¹⁵ (Imagen 27).

Imagen 27. Diferentes tipos de oscilación vistos en el aire con algunas limas (A) ultrasónicas y (B) sónicas. a= antinodo, n= nodo. Tomado de Lumley A, Walmsley A, Laird W. 1991

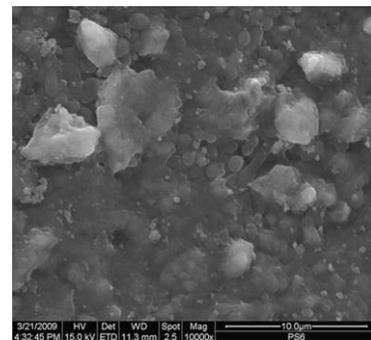


La principal ventaja de la limpieza y el modelado con ultrasonido radica en la formación de microcorrientes acústicas, que consisten en unos patrones complejos de corrientes constantes en espiral o en remolino que se forman junto al instrumento. La agitación del irrigante con una lima activada por ultrasonidos tras la limpieza y el modelado potencia el efecto de la solución irrigante ²².

El uso de ozono en relación a la temperatura y el tiempo han sido ampliamente analizadas. La mayoría de los productos químicos utilizados aumentan su velocidad de acción a medida que se aumenta su temperatura. A temperaturas bajas las moléculas se mueven más lentamente y no tienen suficiente energía para producir reacciones químicas ¹⁵.

Se publicó un artículo en el 2012, en el cual se analizó el efecto del ozono aplicado por el aparato generador Prozone de W&H (140 ppm, 2 L/min), aplicado en un biofilm intrarradicular de *E. faecalis* con el uso de ultrasonidos; fue aplicado por 24 segundos como lo indica el fabricante introduciendo la cánula hasta 2 mm antes de la longitud real y el conducto inundado con solución salina estéril, en seguida la solución salina se activó mediante un escalador ultrasónico PerioScan (70 kHz y 200 mW/cm²) por 30 segundos. Se repitió este procedimiento 4 veces cambiando la solución salina cada vez hasta completar 2 minutos. Se concluyó que el hipoclorito de sodio al 1% en un grupo control positivo demostró ser más eficaz (93.5%) seguido por el ozono combinado con ultrasonido (83.8%), en tercer lugar el uso de ozono solamente (71.6%) y al final el uso del ultrasonido solo (50.2%) ²⁶ (Imagen 28).

Imagen 28. Una vista microscópica electrónica de barrido de *E. faecalis* en biofilm de una raíz de control (10.000x). Cocos individuales pueden verse incrustados en una matriz densa.





Ya se había mencionado anteriormente que el hipoclorito de sodio al 2,5% tenía el mismo efecto que el ozono gaseoso sobre planctónicos de *E. faecalis* y en este estudio sobre un biofilm de *E. faecalis*, 2 minutos irrigando con hipoclorito de sodio al 1% no fueron suficientes para hacer posible que los conductos quedaran totalmente libres de bacterias. El uso de ultrasonidos favoreció la eliminación del barrillo dentinario y biofilms. Estos resultados indican que el ozono tiene un potencial para ser usado como un complemento a los métodos existentes para la desinfección de los conductos radiculares (Estrela, 2006) ¹⁵.

Debido a que los conductos radiculares tienen una estructura compleja y son ricos en compuestos orgánicos, la condición para el tratamiento con ozono para endodoncia debe ser diferente del tratamiento para la caries sobre la superficie del diente. El gas ozono difundido en los conductos radiculares puede reaccionar con los compuestos orgánicos residuales del conducto, aunque mínimamente interfieren con el efecto desinfectante del ozono. En fase acuosa, el ozono reacciona con diversos compuestos orgánicos o inorgánicos, resultando en la rápida eliminación de la molécula activa por su inestabilidad, es decir, puede actuar eficazmente sobre bacterias en la misma concentración en menor tiempo, pero no a mayor tiempo. Para obtener el mejor rendimiento del gas ozono como desinfectante deben eliminarse lo más posible los compuestos orgánicos en la zona de tratamiento antes de la exposición al ozono. Se demostró que el ozono penetra en el tejido dental a 2 mm de profundidad, y no tiene una difusión horizontal ^{27, 13}.

El uso simultáneo del gas ozono con soluciones químicas puede presentar interacciones. El H₂O₂ (6 y 12% en agua) y el ozono aplicado por 20 segundos tienen un efecto bactericida sinérgico en los tratamientos endodóncicos, aunque no parece ser lo suficientemente fuerte para cambiar el protocolo de tratamiento general del sistema de conductos y aplicarlo



clínicamente. Con respecto al hipoclorito de sodio, el ozono interfirió con el efecto bactericida de éste a bajas concentraciones (1,2 ppm y 0,6 ppm en agua), esta interacción debe ser considerada como un demérito para el tratamiento de ozono con hipoclorito de sodio al causar la degradación oxidativa de moléculas activas/iones del mismo, y sobre todo en baja concentración. Por lo tanto no se recomienda el cotratamiento con NaOCl en baja concentración, pero si se usa el ozono, es posible irrigar con NaOCl seguido por una irrigación con H₂O₂ ²⁷.

Debe usarse el ozono acuoso o el ozono gaseoso al terminar de conformar y lavar los conductos radiculares, éste será efectivo si se utiliza en concentraciones suficientes y en tiempos adecuados. No será efectivo si se aplica en concentraciones bajas o no es aplicado correctamente ¹³.

3.2 Microorganismos post-tratamiento endodóncico y el uso de ozono.

El tratamiento de conductos radiculares ha sido el tratamiento de primera elección en Odontología para el cuidado y mantenimiento funcional de un órgano dental infectado (Nair, 2006). Se considera que este tratamiento impide que vivan bacterias dentro del diente, o nunca lo invadan de nuevo, lo cual es muy controvertido en la medicina y la odontología alopática e integrativa ya que estudios han indicado que aún después de haber realizado la terapia pulpar, microorganismos siguen permaneciendo en los pequeños conductos laterales o en los túbulos dentinarios que pueden comunicarse con el tejido periodontal ^{4,14}.

Para combatir a los microorganismos del sistema de conductos radiculares, la instrumentación biomecánica es el punto clave en el tratamiento de conductos. Para Byström y Sundqvist la instrumentación (limpieza,



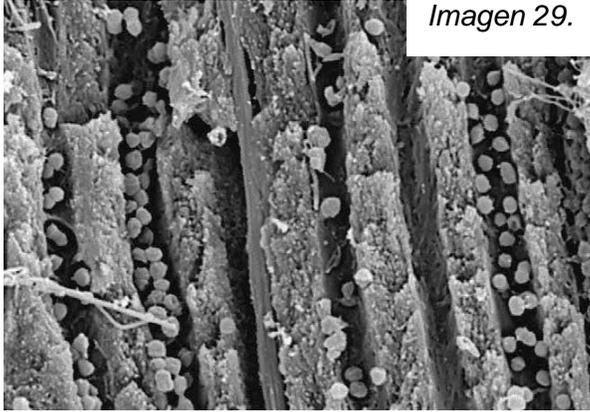
ampliación, conformación del conducto) reduce el número de bacterias en un 50% y los irrigantes sirven para penetrar en áreas no instrumentadas. Landers y Calhoun y Oliet, indicaron que el tratamiento endodóntico debe ser realizada en una sola sesión, basado en la instrumentación biomecánica, coadyuvado por soluciones irrigadoras bactericidas y la subsecuente obturación como el camino para el éxito del tratamiento de conductos ^{1, 2}.

Existe controversia de acuerdo con el número de citas indicadas para terminar un tratamiento de conductos. Un tratamiento de conductos en una sola sesión evita el riesgo de contaminación o recontaminación entre cita y cita. Se indica que en pulpas vitales el tratamiento debe realizarse en una sola sesión mientras que en pulpas necróticas asociadas con lesiones perirradiculares sigue cuestionándose. Aunque ya es sabido que la infección debe ser eliminada antes de la obturación final, se demostró que el tratamiento de dos visitas ofreció una tasa de éxito mayor en comparación con una sesión de terapia. Sjögren demostró una tasa de éxito del 83% para los conductos radiculares tratados en una sola visita, y 93% de éxito en conductos infectados asociados con lesiones periapicales tratados en varias citas ¹⁶.

En presencia de periodontitis apical, el resultado del tratamiento de conductos radiculares está relacionado al uso de estrictas condiciones de asepsia en el procedimiento y la respuesta inmunológica del huésped ⁹.

La idea es que después de la obturación del conducto radicular, las bacterias que hayan permanecido vivas intrarradicularmente se lleven a los túbulos dentinarios adyacentes evitando la proyección hacia el área periapical (*Imagen 30*). Aunque Silveira, Soares y Bonetti Filho demostraron que a nivel del tercio cervical, las bacterias viajan a través del conducto y los túbulos dentinarios hasta alcanzar la zona periapical en casos con lesiones

periapicales crónicas. El cemento celular también puede causar la difusión bacteriana ².



Cocos en los túbulo dentinario aproximadamente 300 micras del conducto principal de la raíz (5000x). (De Siqueira J.F. Jr., 2002).

Las sofisticadas técnicas de la biología molecular han descrito aspectos importantes de la microbiota endodóncica en los diferentes tipos de infección. De interés particular han permitido la evaluación de la diversidad microbiana en las infecciones endodóncicas, revelando que hay más de 400 especies microbianas diferentes que se han encontrado en los conductos radiculares infectados, generalmente en combinaciones que involucran muchas especies en las infecciones primarias y unos pocos microorganismos secundarios en infecciones persistentes. En endodoncia las bacterias se dividen en 9 de los 13 phyla que tienen representantes orales. Los hongos y las arqueas han sido sólo de vez en cuando encontrados en las infecciones endodóncicas ¹⁸.

En la infección primaria intrarradicular participan microorganismos que han participado en las primeras etapas de la invasión de la pulpa (por lo general por caries) que culminaron en la inflamación y posterior necrosis, o pueden ser los microorganismos recién llegados que se aprovecharon de las condiciones en el conducto después de la necrosis pulpar. Las infecciones primarias se ven dominadas por bacterias anaerobias y el número de células bacterianas puede variar desde 10³ hasta 10⁸ por conducto radicular. Los estudios moleculares han revelado una media de 10 a 20 especies o filotipos



infectando los conductos. El tamaño de la lesión periapical ha demostrado ser proporcional al número de especies bacterianas y células en los conductos. Un estudio molecular ha demostrado que el número de taxones por canal está claramente en proporción directa con el tamaño de la lesión: lesiones pequeñas (<5 mm) albergaban aproximadamente 12 taxones, lesiones de entre 5 y 10 mm albergaron 16 taxones, y lesiones de más de 10 mm albergan alrededor de 20 especies. Algunos conductos asociados con lesiones grandes pueden albergar más que 40 taxones; cuanto mayor sea la lesión, mayor es la diversidad bacteriana y la densidad en el conducto ¹⁸.

Las especies predominantes en infecciones primarias, incluidos los casos de abscesos, pertenecen a diversos géneros de bacterias gram-negativas (*Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Campylobacter*, y *Veillonella*) y bacterias gram-positivas (*Parvimonas*, *Filifactor*, *Pseudoramibacter*, *Olsenella*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*) ¹⁸.

Estudios moleculares que investigan la amplitud de la diversidad bacteriana en conductos radiculares infectados han dado a conocer la ocurrencia de filotipos no cultivados pertenecientes a varios géneros, incluyendo *Synergistes*, *Dialister*, *Prevotella*, *Solobacterium*, *Olsenella*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Megasphaera*, *Veillonella*, y *Selenomonas*, así como relacionados con filotipos de la familia o el filo *Lachnospiraceae* TM7. Algunos filotipos no cultivados incluso pueden ser las bacterias más frecuentes en infecciones intrarradiculares primarias que desempeñan un papel en la patogénesis de las diferentes formas de la periodontitis apical ¹⁸.

Las infecciones persistentes son causadas por microorganismos que resistieron dentro de los conductos a los procesos antimicrobianos al realizar una endodoncia. A su vez son causadas por microorganismos que en algún momento han ingresado al sistema de conductos radiculares durante la



intervención profesional. El momento puede ser durante el tratamiento, entre las citas, o incluso después del obturar definitivamente el conducto radicular. En cualquier circunstancia, si los microorganismos logran penetrar y adaptarse al nuevo entorno, sobreviviendo y prosperando, una infección secundaria se estará estableciendo. Las especies implicadas pueden ser microorganismos orales o no, dependiendo de la fuente de infección secundaria ¹⁸.

Las infecciones persistentes y secundarias son en su mayor parte complicaciones (como un absceso apical) que surgen después del tratamiento de pulpas vitales no infectadas o los casos en los que la periodontitis apical estaba ausente en el momento del tratamiento. Ambas situaciones son ejemplos típicos de infecciones secundarias. Tanto las infecciones persistentes y secundarias pueden ser responsables de varios problemas clínicos, incluyendo el exudado persistente, los síntomas persistentes y una lesión periapical después del tratamiento pulpar. Las infecciones persistentes o secundarias son las principales causas de fracaso del tratamiento endodóncico ¹⁸.

En base a esto, los estudios de investigación pretenden revelar las especies que tienen el potencial de influir en un resultado negativo del tratamiento después de obturar. Por otro lado, sirven para mostrar la asociación de las especies con el fracaso del tratamiento, ya varios microorganismos detectados son propensos a estar participando en la etiología de la enfermedad persistente ¹⁸.

Fouad (2005) informó que *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* han sido de particular interés en casos de periodontitis persistente ¹⁴.

Generalmente con las diferentes técnicas de trabajo biomecánico no se alcanzan a eliminar bacterias y productos bacterianos que ya han penetrado por los túbulos dentinarios, en áreas de reabsorción y deltas apicales o



microconductos, es por esta razón que se recomienda el uso de medicamentos antimicrobianos con acción prolongada para completar la desinfección de los conductos de dientes con lesiones periapicales crónicas con la finalidad de combatir la infección profunda y difusa de los túbulos dentinarios o en áreas difíciles de acceder mediante el trabajo biomecánico o por medio de antibióticos sistémicos ².

Los investigadores se han dedicado a buscar un producto capaz de difundirse por los túbulos dentinarios y capaz de destruir a distancia bacterias aerobias, anaerobias o limitar el medio para evitar que se desarrollen ².

Se ha examinado que existen ciertos factores relacionados con la etiología de la enfermedad periapical después de haber realizado la terapia de conductos: (I) Factores microbianos (infección intrarradicular y extrarradicular por bacterias u hongos), (II) Factores no microbianos (factores endógenos, quistes verdaderos; reacción de cuerpo extraño). Los factores que influyen en la muerte o sobrevivencia de los microorganismos incluyen el nicho ecológico concreto, la nutrición, anaerobiosis, pH y la competencia con otros microorganismos ⁹.

En términos generales, las infecciones radiculares primarias se asocian con bacilos anaerobios Gram negativos. Los microorganismos pueden persistir en las raíces y mantener una periodontitis apical, como es el caso de los post-tratamientos en donde se encuentran bacterias Gram-positivas como el *Enterococcus faecalis*, por ello fue una bacteria elegida en casi todos los estudios realizados con ozono, debido a que es una bacteria anaerobia facultativa que posee varios factores de virulencia (Sustancia de agregación, las proteínas de superficie de enterococos, gelatinasa, toxina citolisina, producción extracelular de superóxido, los polisacáridos capsulares, resistencia a determinados antibióticos) que facilitan su adhesión a células huésped y a la matriz extracelular, invadiendo los tejidos, creando un efecto

de inmunomodulación y causando daño mediado por su toxina. De acuerdo con su naturaleza, esta bacteria puede crecer en monocultivos y en distintas condiciones, se puede nutrir en los conductos radiculares, el tracto gastrointestinal y el tracto genitourinario. La naturaleza de esta bacteria interviene en el hecho de que puede crecer en monocultivos y sobrevivir en condiciones diversas, incluyendo una nutrición pobre en los conductos radiculares. El *E. faecalis* se recuperó en un 38%, siendo la especie más común, y la tasa de reparación global de retratamientos en su presencia es del 74%^{9,1} (*Imagen 30*).

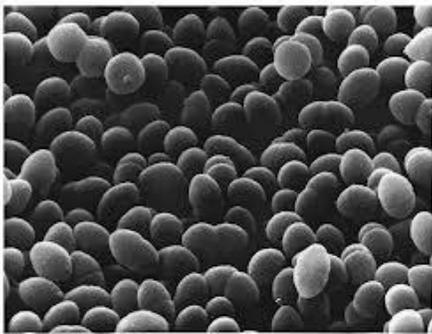


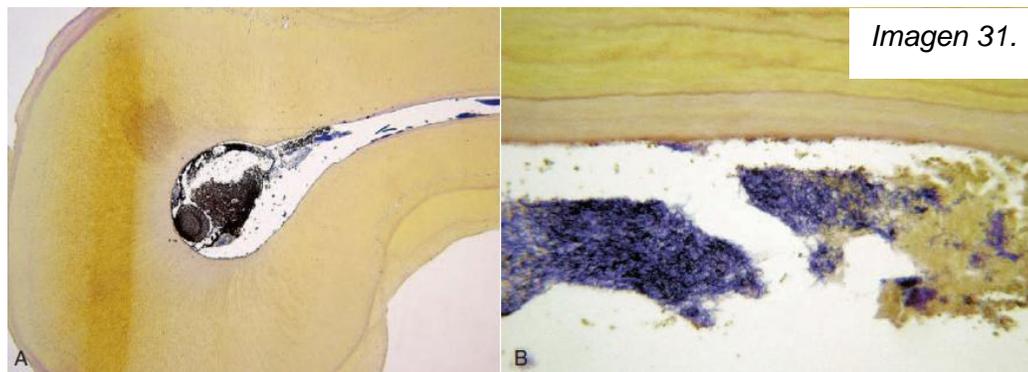
Imagen 30. Enterococcus faecalis

Love postula que en los dientes con patología periapical existe un factor de virulencia de *E. faecalis* relacionado con su capacidad de invadir túbulos dentinarios y adherirse al colágeno en presencia de suero humano⁹.

Las bacterias asociadas con infecciones persistentes también son anaerobias como *Peptostreptococcus micros* o Gram negativas que crecen en biofilms o como planctónicas¹⁴.

El ozono fue aplicado en *E. faecalis* aislada en planctónicos y dentro de biofilms. Se pensó en que por sí sola no representa un reto en la eliminación clínica sino cuando se halla dentro de biofilms adheridos en las superficies de los conductos radiculares, sumando la susceptibilidad de los fenotipos de las bacterias en biofilms diferentes a los fenotipos planctónicos y la variación del medio de crecimiento tanto en las membranas de cultivos como en la

complejidad de los sistemas de conductos de dientes humanos (*Imagen 32*). La duración de la acción del ozono es importante en su efecto antimicrobiano, ya se ha observado una significativa reducción en el número de células en biofilms después de hacer pasar un burbujeo de aire a través de los mismos con agitación durante 240 segundos; pero algunos investigadores han observado que al usar NaOCl al 2.5% con agitación elimina mejor las células viables ¹.



Secciones transversales de un segundo molar superior con raíces fusionadas mesial y palatina. A, infección bacteriana fuerte del conducto extendiéndose a un istmo (25x). B, a mayor aumento del istmo obstruido con bacterias (400x). (Cortesía del Dr. Domenico Ricucci.)

Estrela estudió conductos radiculares infectados por 60 días por *E. faecalis* y observó que el agua ozonizada, el ozono gaseoso, el hipoclorito de sodio al 2,5% y la clorhexidina al 2% eran incapaces de erradicar esta bacteria resistente (*Imagen 32*). Utilizó gas de ozono al 1,2% y agua durante un periodo de tiempo de 20 minutos y tampoco fue eficaz frente a *Enterococcus faecalis*. Otros resultados de estudios realizados en el 2011 sugieren que la concentración de ozono más alta y en menos tiempo fueron eficaces, así el gas y el agua ozonizados actuaron en 15 minutos a una concentración de 5 mg/L contra *E. faecalis* en caldo de cultivo, no en biofilm ^{9, 28}.

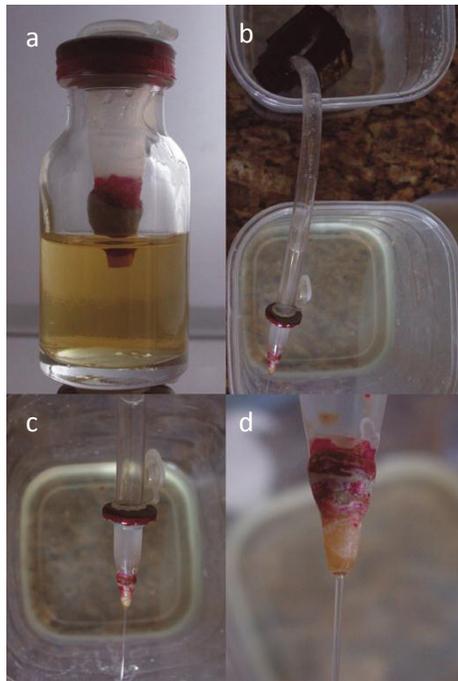


Imagen 32. Vista general del modelo de estudio de Estrela (2007) para evaluar la eficacia antimicrobiana de los irrigantes de conductos radiculares infectados humanos.

(a) plataforma utilizada para la inoculación con el indicador biológico durante 60 días, (b) sistema de riego con bomba peristáltica; (c) irrigantes circula en un flujo constante de 50 ml min) 1; (d) vista más cercana de la imagen anterior.

La acción del ozono en biofilms con burbujeo de aire no aumentó la pérdida de células del *E. faecalis* sino hasta que se agitó el biofilm y se aplicó burbujeo de aire ya que el ozono en gas como tal no produce efecto antimicrobiano sobre éste. La dificultad de difusión del ozono en el biofilm no depende tanto del fenotipo bacteriano sino de la disminución en la concentración del ozono y de la matriz extracelular del biofilm, este polisacárido que lo protege contra el ozono; y si se compara con la acción del NaOCl al 2.5% en un biofilm, el hipoclorito de sodio logra actuar en 120 segundos sin agitación, lo que reafirma su eficacia como irrigante en contra de *E. faecalis*, resultando así con una mayor concentración de moléculas reactivas que el agua ozonizada ^{1,9}.

Nagayoshi en el 2004 observó una acción antimicrobiana casi igual entre el agua ozonizada y el hipoclorito de sodio al 2,5% en la irrigación de conductos cuando se combina con ultrasonidos en contra de *E. faecalis* y *S. mutans*, mostrando un bajo nivel de toxicidad contra fibroblastos; mientras que

Dobladdillos y Hems, evaluaron la capacidad del ozono para erradicar al *E. faecalis* y su eficacia no resultó ser comparable con la del hipoclorito de sodio.^{9, 3, 19, 28}

En un estudio realizado por Huth sobre cultivos planctónicos y mono-biofilms de *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Peptostreptococcus micros* y *Pseudomonas aeruginosa* se realizaron comparaciones con el uso de ozono de manera acuosa o en gas manejando el tiempo de exposición del ozono y la concentración en situaciones intrarradiculares; de igual manera se utilizaron soluciones antimicrobianas para comparar la efectividad del ozono con las mismas, se utilizó hipoclorito de sodio al 5,25% y al 2,25%, digluconato de clorhexidina al 2% y peróxido de hidrógeno al 3%, concluyendo que el hipoclorito de sodio al 5,25% elimina completamente los microorganismos, aunque el ozono acuoso y gaseoso elimina todos los microorganismos planctónicos en concentraciones de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ y 1g m^{-3} respectivamente; en biofilms, la erradicación se logra con el uso de gas ozono en 32g m^{-3} en un minuto o en 4g m^{-3} en 2,5 minutos en contra del *E. faecalis*; con el ozono acuoso en $20 \mu\text{g m}^{-1}$ en 1 minuto casi elimina la totalidad de *E. faecalis*, *C. albicans* y *P. aeruginosa*¹⁴ (Imagen 33).

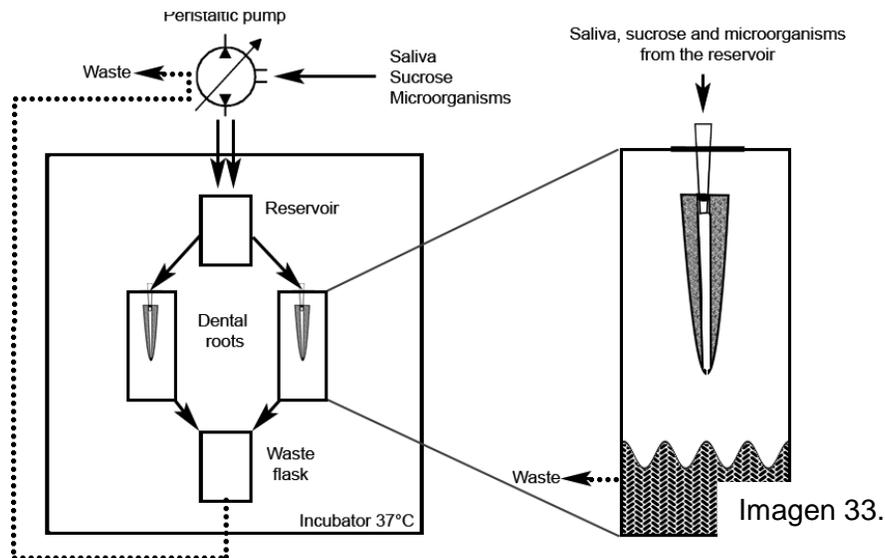




Imagen 33. El montaje de crecimiento de los biofilms mono-especies en los conductos radiculares. Crecidos durante 3 semanas en los conductos radiculares de dientes permanentes extraídos de una sola raíz. Para este propósito, una bomba peristáltica llevó a pre-calentado saliva artificial suplementado con sacarosa y el caldo de microorganismo desde un depósito a través de las raíces en un matraz, a una velocidad de 720 mL⁻¹ por día bajo condiciones aerobias a 37 C°. La parte derecha del dibujo es una vista ampliada de una raíz ejemplar que cuelga en un matraz.

En el caso de *C. albicans*, Arita (2005) informó que casi se elimina en su totalidad con el uso de agua ozonizada a 2 y 4 µg mL⁻¹ en 1 minuto con o sin ultrasonido. Hubo una reducción del 86% con agua ozonizada a 2,5 µg mL⁻¹ en un minuto y una total eliminación a 5 µg mL⁻¹. Con gas ozono a 1g m⁻³ se observó una reducción de más del 99%¹⁴.

En estudios del 2009, *C. albicans* fue eliminada por completo con NaOCl al 5,25%, más del 96% con ozono gaseoso a 53 g m⁻³, y con agua ozonizada a 20 µg mL⁻¹ en un minuto¹⁴.

El *P. micros* un microorganismo anaerobio, en biofilms presenta una total erradicación con gas ozono a 32 g⁻¹, con el NaOCl al 2,25% en 1 minuto y con ozono acuoso a 20 µg mL⁻¹ en 1 minuto¹⁴.

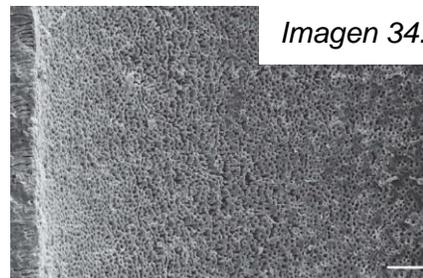
Staphilococcus aureus es una bacteria anaerobia facultativa, pero puede crecer de manera óptima en condiciones aerobias. En un estudio previo se analizó la inactivación de *S. aureus*, *E. faecalis* y *C. albicans* con ozono disuelto en agua en concentraciones de 0,3 a 2,5 mg por litro de agua. *S. aureus* resultó ser más resistente que el *E. faecalis* y *C. albicans*. Para su inactivación total el tiempo requerido fue de 10 minutos. Está demostrado que el uso de ozono en combinación con ultrasonido y agua estéril destilada muestra actividad antibacteriana frente a *S. aureus*¹⁵.

3.3 Protocolo sobre el uso del ozono en el tratamiento endodóncico.

En la realización del trabajo biomecánico de los conductos radiculares es posible irrigar con agua ozonizada. Las limas también pueden cubrirse con aceite de oliva ozonizado para poder desinfectar y lubricar el conducto. Justo antes de obturar se insuflan los conductos lentamente con gas para permitir que la mezcla oxígeno-ozono viaje por los túbulos y los conductos laterales de 45 a 60 segundos a una concentración de 45-50 mcg/ml., para matar microorganismos con carga positiva al oxidarlos ⁴.

Otra opción más reciente es que en un tratamiento endodóncico se utilice la técnica de instrumentación más adecuada para eliminar los desechos necróticos, el tejido pulpar y la dentina infectada. En el protocolo de irrigación se recomienda usar hipoclorito de sodio en altas concentraciones con agitación ultrasónica alternado con EDTA (*Imagen 34*), y como medicamento final se agrega el ozono para eliminar las bacterias residuales de zonas inaccesibles anatómicamente o de los túbulos dentinarios; éste se aplica después de haber secado perfectamente el conducto antes de la obturación definitiva de los conductos radiculares. Se introduce una cánula flexible hasta 3 mm antes del ápice dentro del conducto durante 24 segundos o según indique el fabricante, y se procede a obturar definitivamente. Es importante recalcar que durante la irrigación con el uso de ultrasonidos, las soluciones irrigantes mediante su baja tensión superficial logran limpiar y desinfectar los conductos radiculares, y el gas ozono tiene la posibilidad de fluir en los espacios pocos disponibles para concluir el proceso de desinfección ⁵.

Ejemplo de conductos con capa residual mínima. Después de la irrigación con 17% de etilendiamina tetra-acético (EDTA) e hipoclorito de sodio al 2,5% (NaOCl).





CONCLUSIONES

Desde su introducción en 1840, el uso del ozono está demostrando ser una nueva modalidad terapéutica con grandes beneficios para los pacientes. El potente poder antimicrobiano del ozono, junto con su capacidad para estimular el sistema circulatorio y modular la respuesta inmune hacen que sea un agente terapéutico de elección en el tratamiento de patologías infecciosas incluyendo las de origen endodóncico.

El efecto oxidante del ozono sobre la microbiota se ha demostrado en varios estudios; sin embargo, se han encontrado variados resultados que se han obtenido a partir de diferentes estudios. Esta divergencia en resultados puede estar relacionada con diferencias metodológicas, es por esta razón que no se ha alcanzado un nivel fuerte de seguridad en la aplicación clínica.

Se ha evidenciado una biocompatibilidad del ozono acuoso con células humanas epiteliales orales, fibroblastos gingivales y células periodontales; y el beneficio en la reparación periapical mediante el uso de ozono gaseoso. Está reiterado el efecto pulmonar negativo que podría traer el uso de ozono gaseoso en pacientes alérgicos que llegaran a inhalar altas dosis de ozono, aunque esta situación se encuentra controlada por los fabricantes de los aparatos generadores de ozono.

El uso de ozono es una forma terapéutica fácil y una modalidad de tratamiento sin dolor para los pacientes, por lo que esta es una ventaja gratificante para los mismos pacientes.

De acuerdo con algunos autores, las infecciones de los conductos radiculares no son un evento al azar, se encuentran fuertemente relacionadas con la supervivencia de microorganismos patógenos, el tipo de combinación entre estos y el medio adyacente en los sistemas de conductos radiculares. Es por esta razón que la eficacia microbiana del ozono se ve



influenciada por las características microbianas de los biofilms, es decir, para que el ozono pueda actuar dentro del biofilm intrarradicular dependerá de una agitación ultrasónica y el sinergismo obtenido al ser aplicado en presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Si el ozono es aplicado en presencia de hipoclorito de sodio (NaOCl), se recomendará alternar la irrigación con agua oxigenada y usar el NaOCl en altas concentraciones.

El uso de ozono por sí solo no tiene un efecto desinfectante totalmente efectivo, debe ser combinado con otras alternativas irrigantes más eficaces para lograr la completa desinfección de los conductos radiculares. Sin duda el hipoclorito de sodio (NaOCl) sigue siendo el irrigante de primera elección en las terapias pulpares, no obstante el ozono tiene la posibilidad de penetrar en los túbulos dentinarios y en espacios inaccesibles por el irrigante. En presencia de microorganismos resistentes en estado planctónico o dentro de un biofilm, el uso el hipoclorito de sodio sigue teniendo mejores resultados.

Es así que, la preparación del conducto radicular con su respectiva desinfección cuidadosa y el uso de un medicamento intraconducto antimicrobiano eficaz, sin duda mejorará el pronóstico del tratamiento pulpar. Se ha buscado un protocolo con el uso de ozono en los tratamientos de las infecciones endodóncicas en donde la aplicación del ozono pueda realizarse como último paso antes de obturar permanentemente el conducto, con la finalidad de eliminar los microorganismos remanentes.

El uso de ozono unido a vehículos resultó en lo siguiente: la aplicación como medicación intraconducto busca elevar la tasa de éxito de los tratamientos endodóncicos, para lo cual el aceite ozonizado resultó ser una eficaz alternativa en este uso, en combinación con el propilenglicol también reunió características óptimas como medicación intraconducto y no se verificó afinidad con el hidróxido de calcio.



En la actualidad han salido al comercio varios aparatos nacionales e internacionales que para el profesional no resultan estar al alcance y no son altamente confiables, además de ser generadores de ozono de un elevado costo. La compañía W&H se ha encargado de realizar estudios para la utilización de ozono gaseoso mediante la aplicación terapéutica con el dispositivo Prozone. Esta empresa sacó al mercado aparatos generadores de ozono con la finalidad de obtener una desinfección confiable en el campo endodóncico, además de otros usos odontológicos.

Es bien sabido que el uso del ozono ha causado conmoción y controversia; sin embargo, queda indiscutiblemente la necesidad de realizar estudios clínicos a profundidad para llegar a una concentración y tiempo de aplicación adecuado para lograr una desinfección de conductos radiculares superior.



FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

1. Hems R.S., Gulabivala K., Ready D., Spratt D.A. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. *International Endodontic Journal*, 2005, 38, 22–29.
2. Ortega Cruz H. F., Bonetti Filho I., López Ampuero B. P. Evaluación “*in vitro*” de la asociación del efecto antimicrobiano del ozono unido a vehículos y medicamentos de acción prolongada. *Acta odontol. Venez.* Junio, 2008. 46(2). Hallado en:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652008000200010&lng=en&nrm=iso&ignore=.html
3. Megha Gupta, A. Ozone: An Emerging Prospect in Dentistry. *Indian Journal of Dental Sciences*. March 2012, 4 (1), 47-50.
4. Rothchild J.A., Harris R.E., Mollica P.J. Current Concepts of Oxygen Ozone Therapy for Dentistry in the United States. *International Journal of Ozone Therapy*. 2010, 9, 105-108.
5. Holland A. Ozone in endodontics. Discusses using ozone in endodontic therapy. *Endodontic practice*. February, 2010. Hallado en:
www.rootfillings.com
6. Azarpazhooh A., Limeback H., Lawrence H. P., Fillery E.D. Evaluating the Effect of an Ozone Delivery System on the Reversal of Dentin Hypersensitivity: A Randomized, Double-blinded Clinical Trial. *JOE*. 2009, 1:35, 1-9.



7. Plätzer, B. K., Dallinger C., Krammer B. Desactivación de bacterias mediante el producto Prozone con punta Endo de W&H. Dental Tribune, 2010, Marzo. Hallado en:
http://www.wh.com/es_global/products/reportsandstudies/archive/24983/index.aspx
8. Meena A., Trivedi H.P., Gupta M., Parvez S., Likhyan L. Therapeutic applications of ozonated products. International Journal of Dental Clinics. 2011, 3(2), 68-69.
9. Estrela C., Estrela C.R.A., Decurcio D.A., Hollanda A.C.B., Silva J.A. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. International Endodontic Journal. 2007, 40, 85–93.
10. Garg R.K., Tandon S. Ozone: A new face of dentistry. The Internet Journal of Dental Science. 2009, 7 (2). Hallado en:
<http://www.ispub.com/journal/the-internet-journal-of-dental-science/volume-7-number-2/ozone-a-new-face-of-dentistry.html>
11. Gopalakrishnan S., Parthiban S. Ozone- a new revolution in dentistry. J.Bio.Innov. 2012, 1 (3), 58-69.
12. Bojar Witold, Beata Czarnecka, Prylinski Mariusz, Walory Jaroslaw. Shear bond strength of epoxy resin-based endodontic sealers to bovine dentin after ozone application. Acta of Bioengineering and Biomechanics. 2009, 11 (3), 41-45.
13. Pattanaik Bikash, Jetwa Dinesh, Pattanaik Seema, Manglekar Sachin, Naitam, Dinesh N., Dani Anurag Dani. Ozone therapy in dentistry: A



literature Review. Journal of Interdisciplinary Dentistry. 2011, 1 (2), 87-92.

14. Huth K.C., Quirling M., Maier S., Kamereck K., AlKhayer M., Paschos E., Welsch U., Miethke T., Brand K., Hickel R. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. International Endodontic Journal. 2009, 42, 3–13.
15. Estrela C., Estrela Cynthia R.A., Decurcio D., Silva J. A., Bammann L.L. Antimicrobial Potential of Ozone in an Ultrasonic Cleaning System Against *Staphylococcus aureus*. Braz Dent J. 2006 17(2), 134-138.
16. Vieira Silveira A. M., Lopes Hélio P., Siqueira José F., Macedo Sérgio B., Consolaro A. Periradicular Repair after Two-Visit Endodontic Treatment Using Two Different Intracanal Medications Compared to Single-Visit Endodontic Treatment. Braz Dent Journal. 2007 18(4), 299-304.
17. Pejoan J. Irrigación y desinfección en Endodoncia. Endoroot Comunidad de Endodoncia. 2008, Febrero. Tomado de:
<http://www.endoroot.com/modules/news/article.php?storyid=73>
18. Cohen S., Hargreaves K.M. *Cohen's Pathways of the PULP*. 10th edition. St. Louis, Missouri. Ed. Mosby Elsevier. 2011. Pp. 311,312, 315, 316, 571, 572, 580, 581
19. Ravi Kumar J., Madhu Sudhana. M, Harish Tummala. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite and Ozone gas & Ozone water as irrigants on enterococcus faecalis an in-vitro study. International Journal of Dental Clinics. 2011, 3 (3), 27-30.



-
20. Canalda C., Brau E., Endodoncia Técnicas Clínicas y Bases Científicas. España. Ed. Masson. 2001. Pp. 174, 175.
21. Lima Machado M. E., Endodoncia De la Biología a la Técnica. Sao Paulo. Ed. Amolca. 2009. Pp. 255, 256, 276, 277.
22. Torabinejad M., Walton R.E., Endodoncia Principios y Práctica 4ª ed. España. Ed. Elsevier Saunders. 2010. 263
23. Spickett C.M., Jerlich A., Panasenko O.M., Arnhold J., Pitt A.R., Stelmaszyńska T., Schaur R.J. The reactions of hypochlorous acid, the reactive oxygen species produced by myeloperoxidase, with lipids. *Acta Biochimica Polonica*. 2000, 47 (4), 889-899.
24. Lynch E., Swift E. J. Jr. Ask the Experts: Evidence-based efficacy of ozone for root canal irrigation. *Journal Compilation, Wiley Periodicals, Inc.* 2008, 20 (5), 287-293.
25. Saxena Ajay. S., Ramesh Bhede Rohan, Chandak Manoj. G., Manwar Narendra.U., Nikhade Pradnya.P. Evaluation of unique property of ozone in comparison with 3% sodium hypochlorite in eradication of enterococcus faecalis. *International Journal of Dental Clinics*. 2011, 3 (2), 18-20.
26. Case P.D, Bird P.S., Kahler W.A, George R., Walsh L.J. Treatment of Root Canal Biofilms of Enterococcus faecalis with Ozone Gas and Passive Ultrasound Activation. *JOE*. 2012, 38 (4), 523–526.
27. Nakano Masaco, Takao Ayuco, Ozawa Toshiko, Igarashi Tomokazu, Maeda Nobuko, Hosoya Noriyasu. Microbicidal effect of ozone gas in
-



vitro: interaction with organic compounds and endodontic irrigation agents. *Asian Pacific Journal of Dentistry*. 2012, 12, 21-26.

28. Ingle John I., Bakland Leif K., Baumgartner J. Craig. Ingle's Endodontics 6th edition. Hamilton Ed. BC Decker Inc, 2008. Pp. 1009



Fuentes bibliográficas de las imágenes:

- *Imagen 1.* <http://dicciomed.eusal.es/creadores.php?idcre=393>
- *Imágenes 2 y 3.*
[http://www.oxygenhealingtherapies.com/Dental Ozone Therapy Course Speaker.htm](http://www.oxygenhealingtherapies.com/Dental_Ozone_Therapy_Course_Speaker.htm)
- *Imágenes 4 y 5.* Azarpazhooh A., Limeback H., Lawrence H. P., Fillery E.D. Evaluating the Effect of an Ozone Delivery System on the Reversal of Dentin Hypersensitivity: A Randomized, Double-blinded Clinical Trial. JOE. 2009, 1:35, 1-9.
- *Imágenes 6, 7 y 8.*
http://www.wh.com/es_global/products/prophylaxisparadontology/ozone/?wsb=top
- *Imágenes 9 y 10.* Holland A. Ozone in endodontics. Discusses using ozone in endodontic therapy. Endodontic practice. February, 2010. Hallado en: www.rootfillings.com
- *Imagen 11.* <http://www.ozono.cubaweb.cu/acerca/aceites.htm>,
<http://www.cecmecmed.cu/Docs/RegSan/RCP/Med/1498-Oleozon.pdf>
- *Imagen 12.* Bojar Witold, Beata Czarnecka, Prylinski Mariusz, Walory Jaroslaw. Shear bond strength of epoxy resin-based endodontic sealers to bovine dentin after ozone application. Acta of Bioengineering and Biomechanics. 2009, 11, 41-45.
- *Imágenes 13-19.* Holland A. Ozone in endodontics. Discusses using ozone in endodontic therapy. Endodontic practice. February, 2010. Hallado en: www.rootfillings.com
- *Imágenes 20, 21 y 22.* Gopalakrishnan S., Parthiban S. Ozone- a new revolution in dentistry. J.Bio.Innov. 2012, 1 (3), 58-69.
- *Imagen 23 y 24.* Vieira Silveira A. M., Lopes Hélio P., Siqueira José F., Macedo Sérgio B., Consolaro A. Periradicular Repair after Two-Visit Endodontic Treatment Using Two Different Intracanal Medications Compared to Single-Visit Endodontic Treatment. Braz Dent Journal. 2007, 18(4), 299-304.



- *Imágenes 25.* Cohen S., Hargreaves K.M. *Cohen's Pathways of the PULP.* 10th edition. St. Louis, Missouri. Ed. Mosby Elsevier. 2011. Pp. 312
- *Imagen 26.* <http://www.desinfeccion.com.mx/clorox/>
- *Imagen 27.* [http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_50.](http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_50)
- *Imagen 28.* Case P.D, Bird P.S., Kahler W.A, George R., Walsh L.J. Treatment of Root Canal Biofilms of *Enterococcus faecalis* with Ozone Gas and Passive Ultrasound Activation. *JOE.* 2012, 12 (38), 523–526.
- *Imagen 29.* Cohen S., Hargreaves K.M. *Cohen's Pathways of the PULP.* 10th edition. St. Louis, Missouri. Ed. Mosby Elsevier. 2011. Pp. 580
- *Imagen 30.* <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199501053320105>
- *Imagen 31.* Cohen S., Hargreaves K.M. *Cohen's Pathways of the PULP.* 10th edition. St. Louis, Missouri. Ed. Mosby Elsevier. 2011. Pp. 580
- *Imagen 32.* Estrela C., Estrela C.R.A., Decurcio D.A., Hollanda A.C.B., Silva J.A. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *International Endodontic Journal.* 2007, 40, 85–93.
- *Imagen 33.* Huth K.C., Quirling M., Maier S., Kamereck K., AlKhayer M., Paschos E., Welsch U., Miethke T., Brand K., Hickel R. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. *International Endodontic Journal.* 2009, 42, 3–13.



-
- *Imagen 34.* Cohen S., Hargreaves K.M. *Cohen's Pathways of the PULP.* 10th edition. St. Louis, Missouri. Ed. Mosby Elsevier. 2011. Pp. 339.