

**Evaluación *ex vivo* de la eficacia de la N-Acetilcisteína como irrigante endodóntico frente
a *Enterococcus faecalis*: estudio piloto**

**Laura Yanith García Barragán, Santos Sarid Calderón Cadena, Yary Hasbleidy Pérez
Quiroga**

Trabajo de grado para optar el título en odontología

Universidad Santo Tomás, Bucaramanga

División de ciencias de la salud

Odontología

2025

Dedicatoria

A Dios, nuestro sustento y guía, Él nos ha permitido llegar hasta aquí, nos ha fortalecido en los momentos de duda y nos ha regalado la bendición de contar con las herramientas y las personas necesarias para alcanzar esta meta.

A nuestros padres, quienes, con su amor incondicional, sacrificios y enseñanzas son merecedores de cada una de nuestras victorias. Gracias por creer en nosotros, por apoyarnos en cada paso por impulsarnos día a día a ser mejores personas, cada triunfo y gozo es gracias a ellos, por ello lejos de ser para nosotros una gran alegría y triunfo es más por ellos y para ellos.

Agradecimientos

A nuestras tutoras, la Dra. Laura Viviana Herrera Sandoval y la Dra. María Alejandra Manosalva Estrada, nuestro más sincero reconocimiento por su invaluable guía, dedicación y paciencia durante todo el desarrollo de esta tesis. Sus conocimientos, críticas constructivas y apoyo constante fueron fundamentales para superar cada desafío y alcanzar este logro académico.

Al Laboratorio de Ciencias de la Universidad Santo Tomás, gracias por brindarnos los espacios, recursos técnicos y asesoría necesaria para llevar a cabo nuestra investigación. Su compromiso con la excelencia científica fue un pilar indispensable en este proceso.

Al Ingeniero Víctor Cuellar, nuestra profunda gratitud por su acompañamiento experto en la microscopía de barrido electrónico. Su disposición, atención al detalle y enseñanzas enriquecieron significativamente los resultados de este trabajo.

Finalmente, a todas las personas e instituciones que, de manera directa o indirecta, contribuyeron a la realización de este proyecto. Cada aporte, ya sea académico, logístico o emocional, fue una pieza clave en este camino.

Contenido

Introducción	11
1.1 Planteamiento del problema	13
1.2 Justificación.....	15
1.3 Objetivos	17
1.3.1 Objetivo general	17
1.3.2 Objetivos específicos.....	17
1.3.3 Hipótesis	17
2. Marco teórico	18
2.1 Endodoncia.....	18
2.1.1 Microbiota endodóntica.....	19
2.1.3 Irrigantes de uso endodóntico.....	22
2.1.4 Efectos de los irrigantes en E. faecalis	27
3. Método	28
3.1 Tipo de estudio	28
3.2 Muestra.....	29
3.3 Criterios de selección	29
3.3.1 criterios de inclusión.....	29
3.3.2 Criterios de exclusión.....	29
3.4 Variables.....	29
3.5 Instrumento.....	30
3.6 Procedimiento.....	30
3.6.1 Selección de los dientes	30
3.6.2 Distribución en grupos de estudio de la muestra.....	31

3.6.3 Preparación de la muestra.....	32
3.6.4 Contaminación de la muestra	34
3.6.5 Irrigación de la muestra	35
3.6.6 Procesamiento de la muestra – conteo de UFC	37
3.6.7 Procesamiento de la muestra – microscopia electrónica	38
3.7 Análisis estadístico.....	40
3.8 Consideraciones éticas	40
3.9 Resultados	41
4. Discusión.....	46
6. Conclusiones	50
7. Recomendaciones	50
Referencias.....	51
Apéndices	60

Lista de tablas

Tabla 1. <i>Perfil de microbiota endodóntica de Conductos radiculares con Infecciones endodónticas.</i>	20
Tabla 2. <i>Características de los irrigantes endodónticos de mayor uso en Colombia.</i>	23
Tabla 3. <i>Distribución de los dientes según el grupo de irrigante a evaluar.</i>	31
Tabla 4. <i>Clasificación de los dientes según la morfología.</i>	41
Tabla 5. <i>Distribución de los recuentos de UFC de E. faecalis posterior al tratamiento con irrigantes.</i>	42
Tabla 6. <i>Indicadores de eficacia clínica de los irrigantes evaluados.</i>	43

Lista de figuras

Figura 1. <i>Selección de la muestra</i>	30
Figura 2. <i>Preparación de la muestra</i>	32
Figura 3. <i>Instrumentación e irrigación</i>	33
Figura 4. <i>Sección de coronas</i>	34
Figura 5. <i>Posicionamiento dientes en criovial</i>	34
Figura 6. <i>Preparación inoculo</i>	35
Figura 7. <i>Irrigación final</i>	37
Figura 8. <i>Toma de barrillo dentinario</i>	37
Figura 9. <i>Preparación diluciones y siembra en agar</i>	38
Figura 10. <i>Sección dientes con nitrógeno</i>	39
Figura 11. <i>Recubrimiento en oro para microscopia electrónica</i>	40
Figura 12 <i>Microfotografías tomadas con microscopio de barrido electrónico (SEM) de conductos radiculares de dientes humano contaminado In vitro con E. faecalis (ATCC29212) e irrigados con diversas sustancias</i>	44

Lista de apéndices

Apéndice A. *Operacionalización de variables.* 60

Apéndice B. *Instrumento.*..... 62

Apéndice C. *Plan de análisis estadístico.*..... 63

Resumen

Introducción: *Enterococcus faecalis* es un coco gran positivo que está asociado a infecciones persistentes y fracasos terapéuticos por su permanencia en conductos radiculares en condiciones extremas, lo que dificulta la desinfección durante el tratamiento endodóntico. Aunque el hipoclorito de sodio (NaClO) al 5,25% es el irrigante más utilizado, su citotoxicidad y efectos adversos han motivado la búsqueda de alternativas. **Objetivo:** Evaluar la eficacia *ex vivo* en modelo de dientes de la N-Acetilcisteína como irrigante endodóntico frente a *E. faecalis*. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio piloto con 45 dientes humanos tomados del banco de dientes de la universidad Santo Tomás, entre ellos incisivos, caninos y premolares; estos fueron elegidos y distribuidos de manera aleatoria en los siguientes grupos: Grupo N- acetilcisteína 100mg (12 dientes), Grupo N- acetilcisteína 200mg (9 dientes), Grupo Hipoclorito de sodio al 5,25% (13 dientes) y Grupo control Solución salina 0,85% (11 dientes). Los dientes fueron esterilizados, instrumentados y contaminados con *E. faecalis* durante 30 días, posteriormente cada grupo fue irrigado con 5 ml de la sustancia irrigante correspondiente durante 3 minutos, seguido de inactivación y secado del conducto. Posteriormente, se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) mediante diluciones seriadas y siembra en agar Plate Count, y se analizaron muestras seleccionadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para evaluar cambios morfológicos en el biofilm. **Resultados:** El hipoclorito de sodio (NaClO) presentó reducción del 100% de la carga microbiana, seguido por NAC 200 (66,6%) y finalmente NAC 100 (49,6%). A través de las microfotografías se evidenció que Hipoclorito de sodio logró limpiar el conducto del biofilm de *E. faecalis*. **Conclusiones:** La N-Acetilcisteína tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de *E. faecalis* y podría funcionar como una alternativa de sustancia irrigante al momento de desinfectar el conducto radicular durante el tratamiento de endodoncia, sin embargo, esta capacidad es menor a la que tiene el hipoclorito de sodio al 5,25%.

Palabras clave: N-Acetilcisteína, *Enterococcus faecalis*, Irrigantes endodónticos, Endodoncia

Abstract

Introduction: *Enterococcus faecalis* is a Gram-positive coccus associated with persistent infections and therapeutic failures due to its ability to survive in root canal under extreme conditions, complicating disinfection during endodontic treatment. Although 5.25% sodium hypochlorite (NaClO) is the most commonly used irrigant, its cytotoxicity and adverse effects have prompted the search for alternatives. **Objective:** To evaluate the *ex vivo* efficacy of N-acetylcysteine as an endodontic irrigant against *E. faecalis* in a tooth model. **Materials and methods:** A pilot study was conducted using 45 human teeth obtained from the Santo Tomás University tooth bank, including incisors, canines, and premolars. These were selected and randomly distributed into the following groups: N-acetylcysteine 100 mg (12 teeth), N-acetylcysteine 200 mg (9 teeth), 5.25% sodium hypochlorite (13 teeth), and a control group with 0.85% saline solution (11 teeth). The teeth were sterilized, instrumented, and contaminated with *E. faecalis* for 30 days. Subsequently, each group was irrigated with 5 mL of the corresponding irrigating substance for 3 minutes, followed by inactivation and canal drying. Colony-forming units (CFUs) were then counted using serial dilutions and Plate Count agar plating. Selected samples were analyzed via scanning electron microscopy (SEM) to evaluate morphological changes in the biofilm. **Results:** Sodium hypochlorite (NaClO) achieved a 100% reduction in microbial load, followed by NAC 200mg (66.6%) and finally NAC 100mg (49.6%). Microphotographs confirmed that sodium hypochlorite effectively cleared the canal of *E. faecalis* biofilm. **Conclusions:** N-Acetylcysteine has the ability to inhibit the growth of *E. faecalis* and could serve as an alternative irrigating solution for disinfecting the root canal during endodontic treatment. However, its efficacy is lower than that of 5.25% sodium hypochlorite.

Keywords: N-Acetylcysteine, *Enterococcus faecalis*, Endodontic irrigants, Endodontics

Introducción

La pulpa dental es un tejido conectivo laxo de baja vascularidad rodeado por dentina, formado por una población heterogénea de células, es el encargado de dar vitalidad y protección al diente mediante proyecciones odontoblásticas que se encuentran en él. Este complejo desempeña un papel importante en la respuesta inmunológica y reparación tisular, sin embargo, cuando los microorganismos alcanzan el conducto radicular y superan la capacidad regenerativa de la pulpa, ocasionan daños irreversibles que requieren de la intervención endodóntica. (Alghamdi & Shakir, 2020).

El tejido pulpar es propenso a la colonización de diversos microorganismos, siendo *E. faecalis*, *P. gingivalis* y *F. nucleatum* algunos de los más prevalentes, estos patógenos son capaces de prosperar y multiplicarse en ambientes anaerobios. En este sentido permanecen dentro del conducto radicular a pesar de las condiciones desfavorables; inicialmente se encuentran en estado planctónico, sin embargo, la persistencia puede llegar a formar una estructura más resistente conocida como biopelícula, que tiene un potencial patógeno más fuerte que los de un estado planctónico (Covo Morales et al., 2016).

E. faecalis es uno de los principales responsables de infecciones persistentes y fracasos en los tratamientos endodónticos, ya que tiene la capacidad de sobrevivir en condiciones de pH elevados, dentro de su mecanismo de acción usa la bomba de protones en su membrana plasmática para mantener el equilibrio en ambientes alcalinos. Por lo anterior, es esencial el uso de técnicas de irrigación e instrumentación adecuadas durante la terapia endodóntica para garantizar la eliminación de los microorganismos presentes en el conducto radicular. (Colaco, 2018, Yang et al., 2024).

Según investigaciones, la frecuencia de fracasos endodónticos es de un 10% a 20%, esto puede deberse a múltiples factores como son una limpieza y desinfección incompleta de los conductos radiculares, una obturación inadecuada, presencia de anatomías complejas como conductos accesorios, istmos, extensiones laterales, deltas apicales, la falta de un adecuado selle coronal y la persistencia de microorganismos en el conducto radicular (Swimberghe et al., 2018). La patología con más prevalencia asociado a este fracaso es la periodontitis apical, la cual consiste en la inflamación e infección de los tejidos periapicales como respuesta del organismo a la presencia de bacterias y sus productos en el sistema de conductos radiculares. Entre los microorganismos podemos encontrar a *E. faecalis* el cual desempeña un papel relevante ya que tiene la capacidad de formar biopelículas en las paredes de los conductos radiculares lo que les da una mayor resistencia a los agentes antimicrobianos (Tibúrcio-Machado et al., 2020).

Los irrigantes endodónticos y la instrumentación mecánica son fundamentales para la limpieza y desinfección del conducto, la irrigación logra disolver el tejido necrótico y elimina microorganismos en áreas de difícil acceso para los instrumentos (Khaidarov et al., 2024). Existen gran variedad de irrigantes, el NaClO (hipoclorito de sodio) es uno de los más utilizados, entre otros destacan EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y CHX (clorhexidina) sin embargo, presentan limitaciones lo cual ha impulsado la búsqueda de nuevas alternativas, siendo la NAC (N-Acetilcisteína) una opción debido a sus propiedades antimicrobianas (Guerrero & Callire, 2019).

La NAC es una alternativa como irrigante endodóntico debido a que combina mecanismos de acciones claves para combatir las infecciones bacterianas, interfiere en la síntesis de polisacáridos impidiendo así la formación de biopelícula. Por otra parte, su propiedad mucolítica permite romper los enlaces de disulfuro en la matriz extracelular de las biopelículas

desestabilizando la estructura y así facilita su eliminación y formación. Dado este escenario la NAC se convierte en una opción prometedora para mejorar la eliminación de *E. faecalis* en los conductos radiculares (Aldini et al., 2018).

Este estudio piloto evaluó el potencial de la NAC como irrigante endodóntico alternativo, ofreciendo beneficios clave para la práctica clínica: acción antibiofilm contra *E. faecalis* (principal causante de fracasos endodónticos), menor citotoxicidad versus NaClO (preservando células periapicales), y propiedades mucolíticas que mejorarían la penetración en conductos complejos. Los resultados dan cuenta que la NAC proporcionaría a los endodoncistas una alternativa para casos de infección persistente o retratamientos, optimizando resultados clínicos y reduciendo complicaciones.

1.1 Planteamiento del problema

La salud bucal es un componente fundamental del bienestar general, sin embargo, cerca del 45% de la población mundial padece enfermedades bucodentales, según el último informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2022). Entre estas patologías se encuentran las infecciones endodónticas que están asociadas a caries no tratadas, traumatismos dentales y tratamientos previos fallidos que se presentan como la pulpitis y la periodontitis apical (Siqueira & Rocas, 2020).

En el contexto latinoamericano, reportes previos de México y Brasil, hacen referencia a más de 70% de adultos jóvenes con caries no tratadas, principal causa de las infecciones endodónticas (PAHO, 2021). Mientras que, en Colombia, según el ENSAB IV, 60% de la población entre 20 y 34 años tiene al menos un diente con caries no tratada (MIN Salud 2020). Bajo este panorama, las infecciones endodónticas representan un problema significativo de salud

bucodental debido las múltiples barreras de acceso a la atención endodóntica y el potencial para causar la pérdida de piezas dentales y afectar la calidad de vida de los pacientes (Paiva et al, 2021).

Las infecciones endodónticas son procesos inflamatorios e infecciosos que afectan la pulpa dental y los tejidos perirradiculares, asociados a la colonización del sistema de conductos radiculares por microorganismos (Karamifar et al., 2020). Estas infecciones, como la periodontitis apical, tienen una prevalencia global del 5 a 7% en adultos y representan hasta 40% de las complicaciones posteriores a tratamientos de conducto fallidos (OMS, 2022; Tibúrcio-Machado et al., 2021). El principal desafío en su manejo radica en la carga microbiana que podría persistir en los conductos radiculares, incluso después de tratamientos convencionales con irrigantes (Siqueira & Rocas, 2020). Esta persistencia microbiana no solo compromete el éxito terapéutico, sino que incrementa el riesgo de pérdida dentaria.

Estudios recientes, amplían la diversidad de la microbiota endodóntico relacionada con las periodontitis apicales primarias y secundarias, entre ellos *E. faecalis* se reporta en hasta 77% de los fracasos endodónticos (Park et al, 2024, Tibúrcio-Machado et al., 2021). Este escenario, sumado a la compleja anatomía del sistema del conducto radicular, las interacciones entre los microorganismos, y su estilo de vida formando biopelículas en las paredes de los conductos con la consecuente resistencia a los agentes antimicrobianos, representa la mayor dificultad para reducir la carga microbiana y evitar la reinfeción endodóntica (Ricucci et al, 2010; Tibúrcio-Machado et al., 2020).

En este contexto, los irrigantes endodónticos juegan un papel importante en la desinfección y limpieza de conductos radiculares, existe una amplia variedad de productos reportados en la literatura con ventajas y desventajas en su uso (Gómez et al, 2023). El NaClO , es el más utilizado en nuestro medio, principalmente por su amplia acción bactericida y disolución tisular, sin

embargo, presenta riesgos significativos que limitan su seguridad clínica (Mena et al., 2018). Estudios reportan que su extrusión accidental hacia tejidos perirradiculares genera efectos citotóxicos y reacciones adversas por contacto incluso a bajas concentraciones. Adicionalmente, se documentó que para eliminar biopelículas maduras el NaClO depende de coadyuvantes como el EDTA, que incrementan su citotoxicidad sin garantizar desinfección completa (Fiorillo et al, 2024).

En la búsqueda de sustancias irrigantes ha surgido la NAC considerado un potente antioxidante con propiedades antibacterianas y anti-biopelículas, baja citotoxicidad y de amplia disponibilidad en el mercado (Tenório et al., 2021). La evidencia científica reporta su capacidad *In vitro* para inhibir el crecimiento de microorganismos endodónticos y erradicar la biopelícula incluyendo modelos con *E. faecalis*. Sin embargo, la evidencia sobre el uso de NAC como irrigante endodóntico es contradictoria y los estudios en modelo de dientes humanos son aún incipientes (Hasna et al., 2020). Por lo mencionado anteriormente, surge la pregunta: ¿cuál es la eficacia *ex vivo* de la N-Acetilcisteína como irrigante endodóntico frente a biopelículas de *E. faecalis*?

1.2 Justificación

Las infecciones endodónticas presentan alta prevalencia en la población colombiana enmarcadas en cerca de 60% de potenciales casos por la presencia en adultos jóvenes de caries no tratadas, sumado a la frecuencia de hasta 20% de retratamientos, por ello, entre otras estrategias se necesita optimizar la eficacia en la desinfección en los tratamientos de conductos radiculares (PAHO, 2021; MIN Salud, 2020). Con estas acciones se

estará sin duda impactando la calidad de vida de los pacientes que sufren infecciones endodónticas al disminuir el riesgo de pérdida de piezas dentales por esta causa; así como, promover la cobertura y acceso a la atención endodóntica oportunamente.

Bajo una mirada biológica, un factor relevante en el tratamiento de las infecciones endodónticas es la persistencia de la biopelícula de microorganismos en las paredes del sistema del conducto radicular y túbulos dentinarios a pesar de la terapia químio-mecánica. Se ha demostrado que microorganismos como *E. faecalis*, se encuentran en hasta 77% de los fracasos endodónticos (Tibúrcio-Machado et al., 2021; Park et al., 2024). Aunque los métodos actuales de desinfección son útiles, no logran erradicar por completo las biopelículas microbianas endodónticas; por ello se resalta la necesidad de buscar alternativas de irrigación y medicación con mejores propiedades y de fácil ingreso al uso clínico.

Actualmente, existe una limitación debido a la reducida disponibilidad de irrigantes que sean seguros clínicamente. Algunos de los más utilizados son el NaClO y la CHX a pesar de ser eficaces, presentan alta citotoxicidad. En ese sentido, es pertinente la búsqueda de alternativas de irrigación que sean más seguras debe ser una prioridad tanto clínica como académica.

Frente a este desafío la NAC surge como una alternativa para la irrigación endodóntica dado que es un fármaco de uso clínico, disponible en nuestro medio, con propiedades bactericidas y mucolíticas que actuarían sobre la matriz extracelular de las biopelículas, así como efecto antioxidante que previene el daño tisular por estrés oxidativo. Es así como la inclusión de NAC como irrigante endodóntico podría marcar un avance significativo al momento de erradicar microorganismos resistentes como *E. faecalis* (Valdez Sánchez, 2021). De esta forma, es fundamental validar su eficacia en condiciones que simulen la complejidad clínica real antes de considerar su implementación en la práctica odontológica.

A partir de este estudio piloto se generó evidencia local sobre la eficacia de la NAC como irrigante endodóntico, contribuyendo al desarrollo de alternativas terapéuticas más seguras y accesibles; además, optimizando resultados clínicos y reduciendo complicaciones. Los resultados obtenidos podrán orientar futuras investigaciones clínicas y apoyar la toma de decisiones en la actualización de protocolos endodónticos en Colombia. Con el desarrollo de este trabajo también, se aporta en las líneas de investigación de microbiología oral y material y técnicas del grupo de investigación Sistema Estomatognático y Morfofisiología.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar la eficacia *ex vivo* en modelo de dientes de la N-Acetilcisteína como irrigante endodóntico frente a *E. faecalis*.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la reducción de la carga microbiana de *E. faecalis* en el conducto radicular de los modelos de dientes posterior a la irrigación con NAC (100mg y 200mg), NaClO al 5.25% y NaCl (solución salina) como control.
- Comparar la eficacia *ex vivo* de NAC (100mg y 200) frente al NaClO al 5.25% en la eliminación de *E. Faecalis*

1.3.3 Hipótesis

La N-acetilcisteína como irrigante endodóntico para la eliminación de *E. faecalis* presenta igual eficacia que el NaClO.

2. Marco teórico

2.1 Endodoncia

La endodoncia es la ciencia y el arte que se dedica a tratar el diente y tejido periapical desde un punto de vista morfológico, estructural, fisiológico y patológico, conjugando el conocimiento para tratar de manera integral al diente y tejidos que lo rodean (Iftekhar et al., 2019)

El objetivo principal de la endodoncia implica tres aspectos:

1. Mantener la vitalidad de la pulpa.
2. Preservar y restaurar el diente con pulpa dañada y necrótica.
3. Preservar y restaurar los dientes que han fallado en la terapia de endodoncia

anterior, para permitir que el diente permanezca funcional en el arco dental (Barajas-Cortez, et al, 2014).

La enfermedad endodóntica perjudica el esmalte, la dentina, la pulpa y los tejidos periapicales. Se caracteriza por la pérdida de la integridad del esmalte y de la dentina; y en casos avanzados, la pulpa y los tejidos periapicales también pueden verse indirectamente afectados (Patel, et al, 2019). La respuesta de la pulpa dental a los irritantes microbianos y a otros irritantes físicos y químicos es similar a la respuesta que se da en otros tejidos conectivos. Esta inicia con un proceso inflamatorio de la pulpa que se da en aquella parte superficial en la que la irritación logra alcanzar, para luego expandirse por el resto de la pulpa coronal a medida que la irritación va aumentando.

A diferencia de otros tejidos conectivos, la pulpa dental no presenta circulación colateral y está recluida entre paredes dentinarias rígidas, por lo tanto, en un momento del proceso de la enfermedad, la inflamación pasará de reversible a irreversible (Torabinejad, et al, 2021). Al estar confinada por tejidos duros, la pulpa no es accesible para el examen visual o táctil, por lo que el

clínico debe confiar en los signos y síntomas de la enfermedad, los resultados de distintas pruebas diagnósticas y en las radiografías para establecer un diagnóstico pulpar (Torabinejad, et al, 2021).

2.1.1 Microbiota endodóntica

La microbiota endodóntica hace referencia a la comunidad de microorganismos, principalmente bacterias, que logran colonizar el sistema de conductos radiculares en un diente cuando la pulpa dental que normalmente es sana y estéril pierde su integridad a causa de múltiples factores como lo son caries avanzadas, fracturas dentales, restauraciones defectuosas y traumatismos (Ana, 2018) (Siqueira & Rôças, 2021). El perfil de microbiota endodóntica es uno de los principales factores asociados en las infecciones pulpares y perirradiculares como lo son, la necrosis pulpar y los abscesos apicales, esto se da ya que los microorganismos asentados en el conducto radicular apical están en una posición estratégica produciendo toxinas y productos mediante la formación de biopelículas (Ana, 2018).

En reportes científicos, se evidencia que la microbiota endodóntica está dominada por los Filos bacterianos: Firmicutes (29.9%), Proteobacterias (26.1%), Actinobacterias (22.7%), Bacteroidetes (13.3%) y Fusobacterias (4.5%) (Pinto et al, 2023; Park et al, 2024). En infecciones primarias (no tratadas), predominan consorcios mixtos de anaerobios estrictos como *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella intermedia*, asociados a abscesos periapicales sintomáticos. Por el contrario, en infecciones secundarias (postratamiento), la microbiota se reduce y pueden predominar especies resistentes como *E. faecalis* y *Candida albicans*, que colonizan conductos obturados mediante biopelículas mono-específicas (Pinto et al, 2023; Park et al, 2024).

En la tabla 1, se presentan los perfiles de microbiota según los tipos de infección endodóntica reportados por algunos autores recientes

Tabla 1. Perfil de microbiota endodóntica de Conductos radiculares con Infecciones endodónticas.

Lesiones periradiculares crónica.	Absceso periapical agudo	Infecciones secundarias o persistentes
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Treponema denticola</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Treponema denticola</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Streptococcus mutas</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Actinomyces israeli</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Peptostreptococcus spp</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Eubacterium nodatum</i>		

Tomado de Park et al, 2024

Las biopelículas se acumulan y alcanzan los tejidos periradiculares para dar lugar a una respuesta inflamatoria, que finalmente conduce a la destrucción del ligamento periodontal y el hueso. Este fenómeno puede causar infecciones secundarias y persistentes que se dan por la resistencia de los microorganismos que fueron miembros de una infección primaria o secundaria y que sobrevivieron en el conducto después del tratamiento antimicrobiano y lograron adaptarse a las arduas condiciones ecológicas de los conductos radiculares instrumentados y obturados (Tiburcio-Machado et al 2020, Barbosa-Riveiro et al, 2024).

2.1.1.1 *Enterococcus faecalis.* *E. Faecalis* es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo que se encuentra principalmente en el tracto gastrointestinal humano, mucosa vaginal y área perineal, donde coexiste sin causar daño en huéspedes inmunocompetentes (Adón & Echavarría, 2021). Sin embargo, se ha reconocido a esta bacteria por actuar como patógeno oportunista, en huéspedes con diversas condiciones como: estado de inmunosupresión, uso

prolongado de antibióticos de amplio espectro o presencia de dispositivos médicos invasivos. En contextos clínicos, se asocia a infecciones relacionadas con la atención en salud como endocarditis, bacteriemias, infecciones urinarias y de heridas quirúrgicas (Archambaud et al, 2024).

En endodoncia, *E. faecalis*, se ha asociado a infecciones persistentes y fracasos terapéuticos, presente en el 24-77% de los casos (Elashiry et al, 2023). Su permanencia en conductos radiculares obedece a su capacidad de sobrevivir a condiciones extremas como pH alcalinos, bajos nutrientes y de penetrar túbulos dentinarios hasta 300 μm de profundidad, adhiriéndose al colágeno mediante proteínas de superficie como la adhesina Ace. Además, forma biopelículas que tienden a ser resistentes a irrigantes convencionales (NaClO) y medicamentos intraconducto (hidróxido de calcio), gracias a la producción de exopolisacáridos extracelulares y la regulación de genes de estrés. Estas características explican su papel en periodontitis apicales asintomáticas y reinfecciones postratamiento (Barbosa -Rivero et al, 2024; Elashiry et al, 2023)

Mecanismos de patogenicidad y factores de virulencia de E. faecalis:

1. *Adhesinas* (Ace, Esp, Asa1): permiten la unión a colágeno dentinario, células epiteliales y superficies protésicas, facilitando la colonización de conductos radiculares y la formación de biopelículas. La proteína Esp, en particular, promueve la agregación bacteriana y la resistencia a fagocitos.
2. *Enzimas líticas:*
 - *Gelatinasa* (codificada por *gelE*): degrada tejido conectivo y fibrinógeno, liberando nutrientes y favoreciendo la invasión tisular.
 - *Citolisina* (codificada por *cylA*): induce lisis de eritrocitos y neutrófilos, neutralizando la respuesta inflamatoria.

3. *Modulación de la respuesta inmune*: mediante la producción de superóxido dismutasa, que neutraliza especies reactivas de oxígeno generadas por macrófagos, y la inhibición de la vía del complemento.
4. *Intercambio genético horizontal*: posee plásmidos conjugativos que transfieren genes de resistencia a antibióticos (p. ej., *ermB* para macrólidos) y factores de virulencia, aumentando su adaptabilidad. (Archambaud et al, 2024).

Otra característica relevante es que *E. faecalis* exhibe resistencia intrínseca y adquirida a múltiples antimicrobianos. Presenta baja sensibilidad a β -lactámicos (penicilina G, ampicilina) debido a la expresión de penicillin-binding proteins (PBPs) modificadas, y resistencia natural a aminoglucósidos en condiciones estándar. Adicionalmente, entre 30 a 50% de las cepas clínicas en Latinoamérica muestran resistencia adquirida a tetraciclina (CMI $\geq 16 \mu\text{g/ml}$) y eritromicina (CMI $\geq 8 \mu\text{g/ml}$), mientras que el 100% son resistentes a metronidazol, un fármaco común en protocolos endodónticos. Sin embargo, mantiene susceptibilidad a la combinación amoxicilina/ácido clavulánico (CMI $\leq 4 \mu\text{g/ml}$), que inhibe la síntesis de β -lactamasas. Esta resistencia multifactorial, sumada a su capacidad de formar biopelículas en túbulos dentinarios, explica su persistencia en infecciones endodónticas recurrentes (Karayasheva & Radeva, 2017).

2.1.3 Irrigantes de uso endodóntico

La irrigación de conductos radiculares se define como el lavado, desinfección o neutralización, que lleva como finalidad eliminar bacterias o microorganismos patógenos presentes en la cámara pulpar y conductos radiculares al momento de realizar un tratamiento endodóntico (Gurria et al., 2018). Es considerado como uno de los pasos más importantes para

obtener resultados satisfactorios a largo plazo tanto en diente vital o necrótico, ya que el objetivo de la endodoncia es que el conducto quede con la menor carga bacteriana posible. También, se busca con la irrigación llegar aquellas áreas de las paredes del conducto radicular donde no es posible la instrumentación (Haapasalo et al.,2014).

Es primordial tener en cuenta que el operador se enfrenta a una serie de variaciones anatómicas como istmos, conductos laterales, secundarios, accesorios, conductos ovalados que hacen que se vuelva un desafío mayor el poder penetrar los irrigantes hacia esas zonas ya que estas no logran ser tocadas durante la instrumentación manual o rotatoria (Haapasalo et al.,2014). Por lo tanto, la eficacia del tratamiento endodóntico depende en gran manera del tipo de irrigante que se vaya a emplear puesto que lo ideal sería una sustancia que cumpla las siguientes características: (Botero et al., 2019).

- Antibacteriano.
- Baja toxicidad.
- Solvente de residuos orgánicos e inorgánicos.
- Baja tensión superficial.
- Fácil aplicación
- Lubricante
- Acción rápida.

Tabla 2. *Características de los irrigantes endodónticos de mayor uso en Colombia.*

Irrigante	Propiedades	Ventajas	Desventajas
------------------	--------------------	-----------------	--------------------

Hipoclorito de sodio	<ul style="list-style-type: none"> - Antibacteriano de amplio espectro. - Disuelve tejido orgánico. - Lubricante. 	<ul style="list-style-type: none"> - Efectivo contra bacterias y biopelículas. - Bajo costo. - Ampliamente disponible. 	<ul style="list-style-type: none"> - Citotóxico en caso de extrusión periapical. - Olor y sabor desagradable. - Corrosivo.
Clorhexidina	<ul style="list-style-type: none"> - Antimicrobiano de amplio espectro. - Sustantividad (efecto prolongado). 	<ul style="list-style-type: none"> - Efecto antimicrobiano prolongado. - No es corrosivo. - Menos tóxico que el NaClO. 	<ul style="list-style-type: none"> - No disuelve tejido orgánico. - Menos efectivo contra biopelículas. - Incompatible con NaClO.
EDTA	<ul style="list-style-type: none"> - Quelante (elimina barrillo dentinario). - Remueve la capa de smear layer. 	<ul style="list-style-type: none"> - Mejora la adhesión de materiales de obturación. - Efectivo en la limpieza de conductos. 	<ul style="list-style-type: none"> - No tiene efecto antimicrobiano. - Debilita la dentina con uso prolongado. - No disuelve tejido orgánico.

Tomado de Gomes et al, 2023

El endodoncista cuenta con una gran variedad de sustancias químicamente activas que puede utilizar al momento de realizar su protocolo de irrigación final, cada sustancia cumple una función fundamental dentro del espacio del conducto radicular y es por esta razón que se han establecido una serie de protocolos dependiendo del diagnóstico endodóntico (Haapasalo et al.,2014).

Actualmente existe en el mercado gran variedad de sustancias irrigantes que cumplen con la función de eliminar barrillo dentinario, capa de biofilm, microbiota en general, pero algunos pueden llegar a ser tóxicos para los tejidos periapicales, es por eso que se han venido investigando sobre nuevas sustancias que cumplan la función microbiana, pero a que a su vez sean tolerados por los tejidos (Haapasalo et al.,2014).

2.1.3.1 Tipos de irrigantes. En el tratamiento de endodoncia se han utilizado diferentes tipos de irrigantes; entre ellos los más usados son NaClO, CHX, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). En la tabla 2. Se describen algunas de las principales características de los irrigantes más comunes de uso en endodoncia. Actualmente gracias a los estudios y avances científicos se han identificado ciertas sustancias que cumplen con las características necesarias para actuar como irrigante endodóntico, un ejemplo de ello es el N-acetilcisteína (Barajas-Cortez, et al, 2014).

2.1.3.1.1 Hipoclorito de sodio. El NaClO en endodoncia dio sus inicios en 1920 siendo uno de los primeros irrigantes de conductos radiculares y que hasta la fecha se considera el irrigante por excelencia ya que tiene la capacidad de eliminar tanto tejido orgánico e inorgánico. La asociación americana de endodoncia define el NaClO como un líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino el cual presenta un fuerte olor clorino y una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos (Muñoz-Padilla et al., 2023).

Al NaClO se le han atribuido varias propiedades que son beneficiosas durante el tratamiento endodóntico, dentro de esas propiedades podemos destacar: desbridamiento, permite expulsar los detritos originados a partir de la preparación mecánica del conducto; lubricación, mantiene lubricadas las paredes del conducto lo que permite que la instrumentación sea más sencilla y mejore la acción de los instrumentos (Valdez Sánchez, 2021).

El NaClO se considera un agente microbiano eficaz al momento de eliminar los microorganismos presentes en el conducto radicular, incluyendo virus y bacterias. También, tiene la capacidad de disolución de tejido pulpar lo cual dura un tiempo aproximado de 20min a 2 horas, pero esta solución depende en gran parte a la integridad estructural del tejido pulpar; si la pulpa

está descompuesta la disolución del tejido se realiza más rápidamente a diferencia de la pulpa vital que llevaría más tiempo de disolución. La baja tensión superficial también le permite penetrar todas las concavidades del conducto radicular (Muñoz-Padilla et al., 2023).

2.1.3.1.2 EDTA. Ácido etilendiaminotetraacético actualmente conocido como EDTA es un agente quelante de uso endodóntico, su principal función es eliminar el material inorgánico que queda como producto de la instrumentación durante el tratamiento endodóntico, es usado en el protocolo de irrigación final de conductos con una concentración de 17% en compañía de otros irrigantes endodónticos, ya que el EDTA por sí solo no elimina eficazmente los componentes orgánicos del barrillo dentinario (Hernandez et al, 2023).

2.1.3.1.3 N-acetilcisteína. La N-acetilcisteína, es un derivado de la L-cisteína, un aminoácido. Este derivado ha sido investigado en varios ámbitos, diversos estudios han demostrado que la N-Acetilcisteína inhibe la producción de citoquinas proinflamatorias. En otros estudios, se ha encontrado que la N-Acetilcisteína presenta actividad antibacteriana contra bacterias importantes para la medicina como *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* (Choi et al, 2017).

En términos de enfermedades bucales, investigaciones recientes han verificado que la N-Acetilcisteína tiene efectos antibacterianos y anti biofilm contra microorganismos de la cavidad oral como *Prevotella intermedia* y *E. faecalis*, que frecuentemente se encuentran en infecciones endodónticas por lo que estas propiedades indican la posibilidad de utilizar NAC para este tipo de tratamientos (Choi et al, 2017).

NAC ha sido utilizado ampliamente en el desarrollo de ensayos clínicos, esto debido a que desde hace mucho tiempo ha sido usado de forma segura en humanos como tratamiento para la sobredosis con Acetaminofén (Valdez Sánchez, 2021).

Se ha encontrado evidencia de actividad antibacteriana contra una serie de bacterias de gran importancia para el área de la odontología, entre ellas *P. intermedia* y *E. faecalis* (Khosravi et al., 2019).

2.1.4 Efectos de los irrigantes en E. faecalis

E. faecalis es uno de los microorganismos más resistentes y frecuentemente asociados a infecciones endodónticas persistentes y secundarias, su capacidad de formar biopelículas, de sobrevivir en condiciones adversas y colonizar túbulos dentinarios lo convierten en un desafío al momento del tratamiento endodóntico, por ello, la elección y uso adecuado del irrigante endodóntico es importante al momento del tratamiento, a continuación se describe algunos de los irrigantes más utilizados en endodoncia y su acción frente *E. faecalis* (Alghamdi et al., 2022).

El NaClO, es uno de los irrigantes con mayor eficacia esto gracias a su capacidad antimicrobiana, su mecanismo de acción frente a *E. faecalis* se basa en su poder oxidante el cual consiste en la liberación de iones de NaClO que reaccionan con los componentes celulares, provocando la desnaturalización de proteínas la degradación de ácidos nucleicos y la destrucción de la membrana celular, esto conduce a la lisis celular y la muerte bacteriana. Además, el NaClO tiene la capacidad de penetrar en los túbulos dentinarios, donde *E. faecalis* suele alojarse, lo que lo hace efectivo contra biopelículas bacterianas. Sin embargo, su eficacia depende de factores como la concentración, el tiempo de contacto y la presencia de biopelículas, ya que *E. faecalis* es conocido por su resistencia a condiciones adversas (Jaramillo et al., 2016).

El EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) tiene propiedades antimicrobianas principalmente bacteriostáticas lo que ayuda a inhibir el crecimiento de las bacterias como *E. Faecalis* especialmente cuando estas se encuentran en estado planctónico, también actúa como agente quelante lo que le brinda capacidad de eliminar la capa de smear layer (capa de barrillo dentinario) y desmineralizar la dentina, lo cual facilita la penetración como irrigante incluso en los túbulos dentinarios (Llop Grima, 2022).

La CHX actúa frente a *E. faecalis* como agente antimicrobiano gracias a su mecanismo de acción que le permite desestabilizar la membrana celular bacteriana ya que tiene una carga positiva que interactúa con los grupos fosfatos cargados negativamente que se encuentran en la membrana celular de las bacterias lo cual provoca desestabilización y aumento de la permeabilidad celular permitiendo así la fuga de componentes intracelulares, lo que finalmente lleva a la muerte celular, su uso como irrigante complementario mejora significativamente la desinfección de los conductos radiculares (Badillo Córdova, 2023).

La N-Acetilcisteína a 100 mg/ml ha demostrado alterar completamente las biopelículas endodónticas maduras de múltiples microorganismos incluyendo el *E. faecalis*, también se mostró que la N-Acetilcisteína en concentraciones de 25 y 50 mg/mL puede eliminar la biopelícula madura de múltiples especies hasta cierto punto, pero aun así fue capaz de eliminar exitosamente las bacterias ubicadas en la biopelícula remanente que tenía unas pocas capas de células de espesor (Quah et al., 2012).

3. Método

3.1 Tipo de estudio

Es un estudio experimental de tipo cuasiexperimental *ex-vivo* porque se busca determinar si la intervención, en este caso la irrigación con N-Acetilcisteína, es eficaz en comparación con el

grupo control y por el NaClO en la reducción de biofilm de *E. faecalis* en conductos radiculares. Se aplicará sobre las muestras constituidas por dientes humanos y se confirmará la reducción bacteriana de *E. faecalis* (Zurita-Cruz, 2018).

3.2 Muestra

En el presente trabajo se incluyeron 45 dientes anteriores y premolares unirradiculares superiores e inferiores, sanos que estaban disponibles en el banco de dientes de la universidad Santo Tomás.

3.3 Criterios de selección

3.3.1 criterios de inclusión

- Dientes con formación radicular completa y ápices cerrados
- Dientes con coronas completas
- Dientes unirradiculares

3.3.2 Criterios de exclusión

- Dientes con caries o restauraciones
- Dientes con conductos obliterados

3.4 Variables

En este estudio se incluyeron las siguientes variables: sustancia irrigante utilizada (NAC 100mg, NAC 200mg, NaClO 5,25%, NaCl 0,85%, tipo de diente y carga microbiana de *E. faecalis*

después de la irrigación, las cuales se clasificaron según su naturaleza en cualitativos y cuantitativos. (Ver apéndice A)

3.5 Instrumento

La información se registró en un instrumento de recolección que incluía: número del diente, tipo de diente, sustancia irrigante utilizada y recuento de UFC; para así obtener los resultados de la reducción bacteriana mediante el uso de los siguientes irrigantes: NAC 100mg, NAC 200mg, NaClO 5,25%, NaCl 0,85%, y así comparar la eficacia de NAC frente a *E. faecalis*. (Ver apéndice B)

3.6 Procedimiento

3.6.1 Selección de los dientes

Los dientes fueron tomados del banco de dientes de la Facultad de Odontología de la Universidad Santo Tomás Tomas (regulado por la Ley 2287 de 2023), en cumplimiento del protocolo se envió una carta de solicitud y se aceptaron los procedimientos de manejo por los investigadores. Para la selección de los dientes a incluir, el equipo de trabajo realizó un proceso de identificación y elección evaluando el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión de cada diente.

Figura 1. Selección de la muestra



Posterior a la selección de los dientes, se realizó una radiografía periapical de cada diente para constatar la existencia de un conducto radicular único y verificar que no se encontrarán obliterados. Seguidamente los dientes se lavaron y curetearon para eliminar cualquier resto que estuviera en la raíz, los dientes fueron preservados en un recipiente con NaCl estéril para de esta manera mantenerlos hidratados, estos fueron debidamente sellados y rotulados haciendo recambios de NaCl cada 8 días hasta su uso.

3.6.2 Distribución en grupos de estudio de la muestra

Para el proceso de distribución se asignaron números a cada uno de los dientes seleccionados entre 1 y 45, seguidamente se realizó la aleatorización por bloque.

Los dientes fueron divididos en cuatro grupos quedando distribuidos de la siguiente manera:

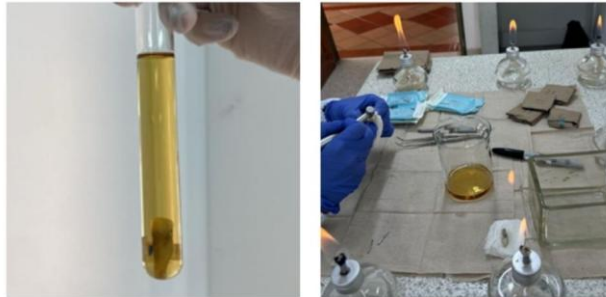
Tabla 3. Distribución de los dientes según el grupo de irrigante a evaluar

Irrigante	Frecuencia	Porcentaje (%)
N-Acetilcisteína 100 mg (NAC 100)	12	26,6
N-Acetilcisteína 200 mg (NAC 200)	9	20
Hipoclorito de sodio al 5,25% (NaClO)	13	28,9
Solución salina al 0,85% (SS)	11	24,4
Total	45	100

3.6.3 Preparación de la muestra

Los dientes seleccionados fueron preparados y procesados en el Laboratorio de Investigación y Ciencias Básicas (LICB) de la universidad Santo Tomás seccional Bucaramanga. Previo a su uso, los dientes fueron esterilizados a través de autoclave, en tubos de ensayo que contenían caldo tripticasa de soya (oxoid®), durante 15 minutos a 121°C. Finalizado este paso y para verificar el proceso de esterilización, los dientes se incubaron a 37°C durante 24 horas, de observarse turbidez se esterilizaban nuevamente (Cruzado, 2009).

Figura 2. Preparación de la muestra



Seguidamente, en campo estéril, se procedió a realizar las aperturas camerales de cada diente usando la técnica convencional, para ello se utilizó una fresa redonda mediana para el acceso inicial y una fresa redonda pequeña para el ingreso a la cámara pulpar, se delimitó la apertura con una fresa Endo zekrya o una fresa troncocónica delgada.

Para iniciar la preparación quimio-mecánica se trabajó dentro de la cabina de seguridad biológica tipo II. Los conductos radiculares fueron permeabilizados con lima K de 10mm de la casa comercial (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), para definir la longitud de trabajo definitiva se llevó una lima 15, 1mm fuera del foramen apical, se tomó la longitud y se restó el milímetro observando que la lima quedara a ras del ápice, los conductos fueron instrumentados

hasta la lima 25, irrigando con NaCl entre lima y lima, la instrumentación final se realizó con limas rotatorias reciproc R25 de la casa comercial VDW, utilizadas en un motor (Smart plus de la casa comercial Denstply) a 300 rpm. Se realizó una irrigación final con EDTA 17% por tres minutos para eliminar el barrillo dentinario y se inactivo con 5ml de NaCl y secados con puntas de papel. Para la estandarización de la muestra se seccionaron las coronas, este proceso se realizó en la preclínica donde se creó un medio estéril con mecheros, cada diente fue medido con un dentímetro estéril desde el borde incisal hasta el ápice y se demarcaron 16mm con un Sharpie, con un disco de carburo diamantado se realizó la sección de las coronas de cada uno de los dientes (Cruzado, 2009). Los dientes fueron llevados a la cabina de flujo laminar se dejó una punta de papel en cada conducto y se realizó el selle del ápice con ionómero Fuji lining paste de la casa comercial GC para prevenir la microfiltración bacteriana apical, se retiró la punta de papel y se selló con teflón estéril la entrada al conducto (Cruzado, 2009).

Se realizó una segunda esterilización llevando las raíces a la autoclave en tubos de ensayo que contenían caldo tripticasa de soya (oxoid), durante 15 minutos a 121°C, posterior a la esterilización los tubos se incubaron a 37°C durante 3 días para verificar el proceso de esterilización, los dientes que presentaron turbidez se descartaron (Cruzado, 2009).

Figura 3. *Instrumentación e irrigación*

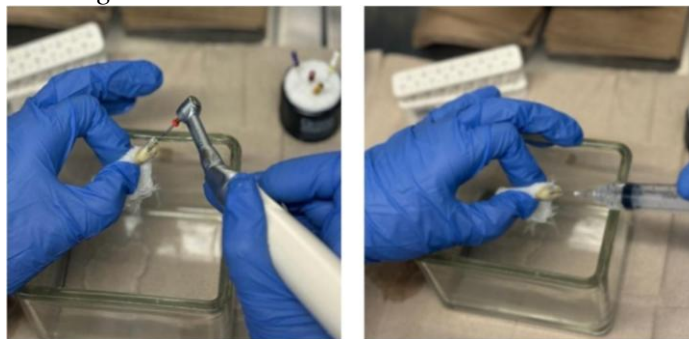
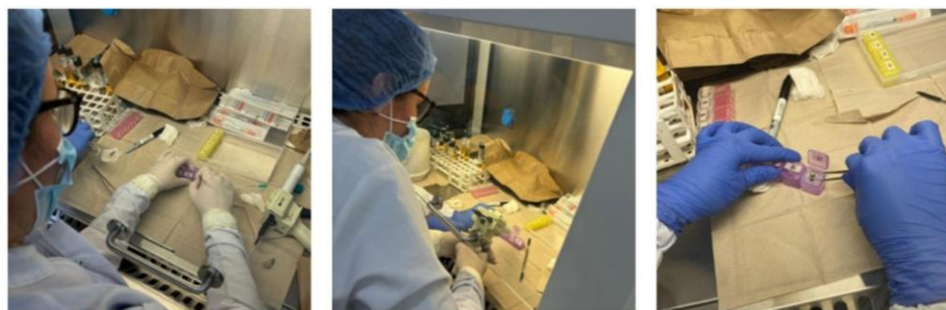


Figura 4. *Sección de coronas*

3.6.4 Contaminación de la muestra

Todos los procedimientos se realizaron en cabina de bioseguridad tipo II. Previo a la inoculación se realizó el montaje de los dientes en una caja de crioviales, cada espacio se llenó con silicona elite glass médium de la casa comercial zhermack para posicionar los dientes verticalmente hasta el tercio cervical, esto para facilitar la manipulación, conservación e identificación de las muestras (Quah et al.,2012).

Figura 5. *Posicionamiento dientes en criovial*

Para la contaminación de las raíces y obtención de biofilm se utilizó la cepa de *E. faecalis* (ATCC29212) cultivada 24 horas antes en agar sangre; posterior a esto se realizó la preparación del inóculo por adición de 1ml de cultivo puro de *E. faecalis* en 5ml de caldo de BHI y se estandarizó en la escala 0,5 de McFarland (Martínez-Rodríguez et al., 2019).

Figura 6. *Preparación inóculo*

Se realizó la contaminación de cada raíz, adicionando el inóculo previamente preparado con una jeringa de 5ml y punta de irrigar aguja de 27-G de ventana lateral (Vista, Appli –Vac, USA) hasta el llenado del conducto, la entrada de los conductos fue sellada con teflón estéril; se llevó a incubar a 37° haciendo recambios del inóculo cada 8 días por 30 días, con cultivos frescos de *E. faecalis* para garantizar la viabilidad y estabilidad del biofilm (Ferrer-Luque et al., 2014).

El proceso de contaminación fue realizado por un miembro del equipo de trabajo previamente calibrado por un especialista de endodoncia, para evitar sesgos durante el procedimiento y disminuir el error humano. La manipulación de los microorganismos fue realizada por profesionales en bacteriología.

3.6.5 Irrigación de la muestra

Todos los procedimientos se realizaron en cabina de bioseguridad tipo II. Pasado el tiempo de contaminación, se procedió a la irrigación, para ello, se retiró el teflón con una pinza algodonerá estéril, a continuación, se describe el proceso de irrigación para cada grupo según la sustancia irrigante:

Grupo NAC100mg: Se irrigó con 5ml de N-Acetilcisteína a una concentración de 100mg (Choi et al., 2017) con una jeringa hipodérmica de 5ml y aguja de irrigar 27-G de salida lateral durante 3 minutos (Vista, Appli –Vac, USA) con movimientos de entrada y salida, posterior a la irrigación la N-acetilcisteína se inactivó con agua destilada estéril durante 2 minutos y el conducto radicular fue secado con puntas de papel estériles.

Grupo NAC200mg: Se irrigó con 5ml de N-Acetilcisteína a una concentración de 200 mg (Quah, et al., 2012) con una jeringa hipodérmica de 5ml y aguja de irrigar 27-G de ventana lateral (Vista, Appli –Vac, USA) con movimientos de entrada y salida durante 3 minutos, posterior a la irrigación la N-acetilcisteína se inactivó con agua destilada estéril durante 2 minutos y el conducto radicular fue secado con puntas de papel estériles.

Grupo NaClO 5.25%: se irrigó con de 5ml de NaClO al 5,25% con una jeringa hipodérmica de 5ml y aguja de irrigar 27-G de ventana lateral (Vista, Appli –Vac, USA) con movimientos de entrada y salida durante 3 minutos, posterior a la irrigación el NaClO 5.25% se inactivó con tiosulfato de sodio al 5,25% durante 2 minutos y el conducto radicular fue secado con puntas de papel estériles.

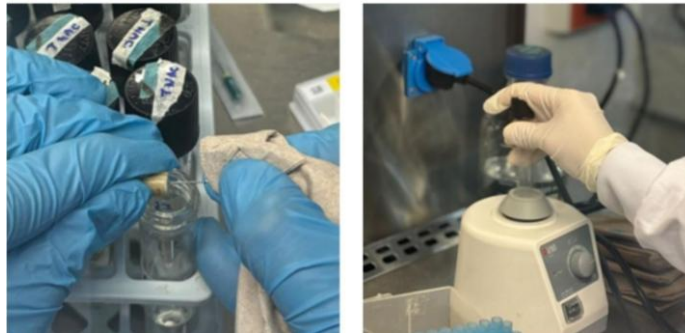
Grupo SS: Se irrigó con 5ml de NaCl a una concentración 0,85% con una jeringa hipodérmica de 5ml y aguja de irrigar 27-G de ventana lateral (Vista, Appli –Vac, USA) con movimientos de entrada y salida durante 3 minutos, posterior a la irrigación el conducto radicular fue secado con puntas de papel estériles.

Para el proceso de irrigación se realizó la calibración de un investigador por un especialista en endodoncia para garantizar la estandarización de la muestra; esta se realizó en la cabina de seguridad biológica con el fin de evitar contaminación exterior.

Figura 7. *Irrigación final*

3.6.6 *Procesamiento de la muestra – conteo de UFC*

Posterior a la irrigación de la muestra, se realizó con una lima k 40mm (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), movimientos de limado en las paredes del diente para generar barrillo dentinario, esta lima se depositó en un tubo de ensayo que contenía 5ml de NaCl estéril, el tubo fue sellado y llevado al vortex por 10 segundos para lograr desprender las partículas presentes en la lima. A partir de esta solución, se realizaron diluciones seriadas por cada muestra, para los grupos 2,3 y 4 hasta 10^{-6} .

Figura 8. *Toma de barrillo dentinario*

Posteriormente, se tomó 0,1 ml de cada dilución y se colocó en una placa de agar Plate Count (Scharlau®) extendiéndola en la superficie con asas de digralsky; se dejó reposar por 10

minutos y las placas se incubaron a 37° durante 24 horas. Posteriormente se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) empleando un contador de colonias electrónico (Boeco), para determinar las UFC/mL se utilizó la formula:

$$UFC/mL: \frac{\text{numero de colonias contadas}}{\text{volumen inoculado(mL)} \times \text{factor de dilución}}$$

A partir de los recuentos obtenidos se determinó el porcentaje de reducción de la carga microbiana para cada grupo de estudio, empleando la siguiente formula:

$$\% \text{ Reducción: } 100 * \frac{\text{Mediana control (SS)} - \text{mediana grupo tratado}}{\text{Mediana grupo control (SS)}}$$

Figura 9. Preparación diluciones y siembra en agar



Los datos obtenidos fueron registrados en una base de datos en Excel para luego ser exportados a STATA

3.6.7 Procesamiento de la muestra – microscopia electrónica

Con el fin de identificar la disminución del biofilm de *E.faecalis* y cambios morfológicos y/o estructurales en el sistema del conducto radicular de las piezas tratadas con los diversos irrigantes, se realizó la técnica de microscopia electrónica de barrido (SEM) en el laboratorio NANOLAB de la Universidad Pontificia Bolivariana de Bucaramanga.

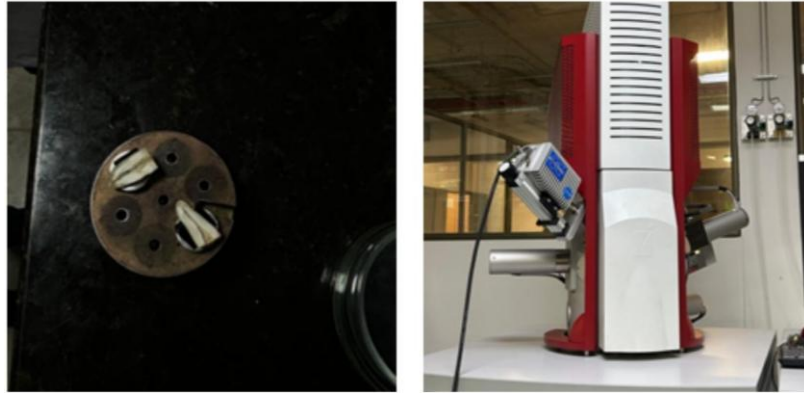
Posterior a la irrigación se conservaron dos raíces tratadas por cada grupo, se dividieron longitudinalmente utilizando Nitrógeno líquido y los cortes se mantuvieron en esterilidad a temperatura ambiente, hasta su traslado al laboratorio NANOLAB. Allí se sometieron a deshidratación con CO₂, en un desecador de punto crítico (WISD), y seguidamente se llevaron a un metalizador automático (Cressintong) donde fueron rociadas con oro pulverizado que les da propiedades luminiscentes a las superficies recubiertas. para ser observados en microscopio de barrido electrónico.

Figura 10. *Sección dientes con nitrógeno*



Se procedió a la observación de los cortes de los dientes de cada grupo tratado en el microscopio de barrido Mira 3FEG-SEM, en el modo alto vacío, se manejaron voltajes entre 0,5 a 30KV, y se inició el escaneo llevando hasta la resolución de 1.000.000 X. Las imágenes se tomaron recorriendo las porciones del conducto principal evidenciando la presencia de estructuras sugestivas de biofilm. El análisis de las imágenes obtenidas fue de carácter cualitativo por comparación entre grupos y publicaciones previas.

Figura 11. *Recubrimiento en oro para microscopia electrónica*



3.7 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en el paquete estadístico Stata/MP versión 14,0 se ejecutó una prueba de shapiro wilk en la que se determinó distribución no normal de los recuentos de UFC de *E. faecalis* en los grupos de estudio. Por tanto, se determinaron las medidas de tendencias central junto con medidas de dispersión, mediana y rango de los recuentos.

Para el análisis Bivariado se aplicó la prueba Kruskall Wallis debido a la distribución de los recuentos. Se consideró significancia estadística para aquellos valores p menor o igual a 0,05.

3.8 Consideraciones éticas

Para la realización del proyecto de investigación se tuvieron en cuenta los lineamientos establecidos por la Resolución 08430 de 1993 del Ministerio de Salud, la cual especifica las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, se estableció que es un estudio sin riesgo ya que se realizó con piezas dentales donados al banco de dientes de la Universidad Santo Tomas regulado por la Ley 2287 de 2023, que regula el funcionamiento de los biobancos en Colombia.

Esta investigación fue clasificada como de riesgo mínimo según el artículo 11, al tratarse de un estudio *in vitro* que no involucra intervención en pacientes ni compromete su integridad. Sin embargo, conforme al artículo 67, el análisis de riesgos la ubica en el grupo de riesgo II, dado que el microorganismo empleado (*E. faecalis*) representa un riesgo moderado para el individuo y limitado para la comunidad.

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Investigación y Ciencias Básicas (LICB) y se contó con el equipo de laboratorio de acuerdo con las normas técnicas que garantizan el manejo seguro de los microorganismos tales como manuales y protocolos de procedimientos para los laboratorios de microbiología. También se realizó entrenamiento al personal investigador sobre la manipulación, transporte, utilización, descontaminación y eliminación de desechos. Se contó con bibliografía actualizada, sistemas de contención, normas y reglamentos internos, se identificaron riesgos involucrados y otros aspectos relacionados. Todo lo anterior contemplado en el título IV, artículo 63 del capítulo I, de la resolución 8430 de 1993-8.

3.9 Resultados

En el presente trabajo se incluyeron 45 dientes, entre ellos incisivos, caninos y premolares, (Ver tabla 1) que se distribuyeron aleatoriamente en los siguientes grupos: NAC 100mg (12 dientes), NAC 200mg (9 dientes), NaClO 5.25%, NaCl estéril 0.85% 11. En la tabla 4 se describe la distribución de los dientes incluidos según la morfología, considerando que se utilizó un mayor número de premolares (42,2%) y caninos (35,5%).

Tabla 4. *Clasificación de los dientes según la morfología.*

Clasificación del diente	Frecuencia(n)	Porcentaje(%)
--------------------------	---------------	----------------

Incisivo	10	22,2
Canino	16	35,5
Premolar	19	42,2
Total	45	100

Para determinar el comportamiento de la carga microbiana de *E. faecalis* expresada en recuentos de UFC, se aplicó la prueba Kolmogórov-Smirnov y se estableció una distribución no normal ($p < 0,001$).

Tabla 5. Distribución de los recuentos de UFC de *E. faecalis* posterior al tratamiento con irrigantes.

Grupo	Mediana	Rango	Reducción (%)
NAC100mg	690	60-2050	49,6
NAC200mg	550	210-22050	66,6
NaClO 5,25%	0	0-1240	100
SS	1650	30-45000	NA

En la tabla 5, se presenta los recuentos y porcentaje de reducción de la carga microbiana de *E. faecalis* posterior a los tratamientos con irrigantes. Se evidenció que en general todos los grupos de estudio irrigantes afectaron la carga microbiana de *E. faecalis* en el sistema del conducto radicular. Sin embargo, los dientes irrigados con NaClO 5.25% presentaron el menor recuento, mientras que en los dientes tratados con NaCl se mantuvo una carga elevada de *E. faecalis* en el sistema del conducto radicular.

A través de la prueba de Kruskal- Wallis se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los recuentos de UFC de los grupos de estudio ($p:<0,001$). Por ello se realizó una prueba pos hoc de Dunn con corrección de Bonferroni y se determinó que todos los grupos de irrigantes presentan diferencias estadísticamente significativas con el grupo control ($p:<0,05$), así mismo entre el NaClO 5.25% y los demás grupos de estudio existen diferencias($p:<0,05$). Por el contrario, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos NAC 100 y 200 ($P=0,45$).

Por otra parte, se evidenció que los irrigantes evaluados reducen en más 40% la carga microbiana de *E. faecalis* y que los dientes tratados con NaClO presentaron el mayor porcentaje de reducción (99,9%), mientras que el NAC100 presentó el menor (49,6 %).

Tabla 6. Indicadores de eficacia clínica de los irrigantes evaluados

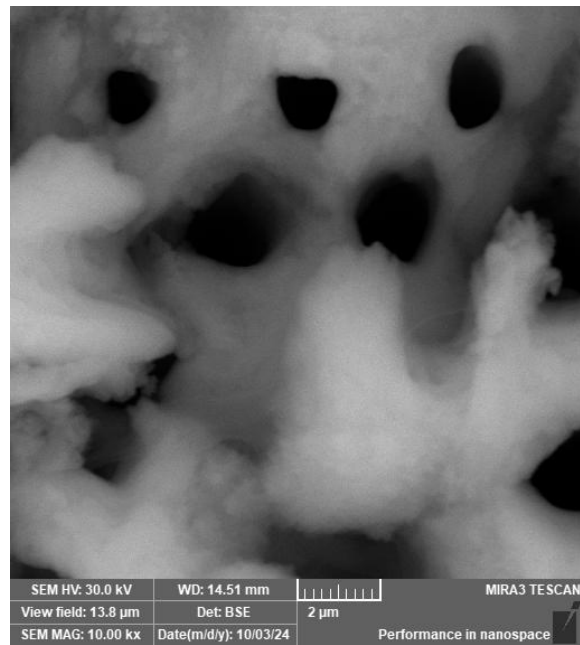
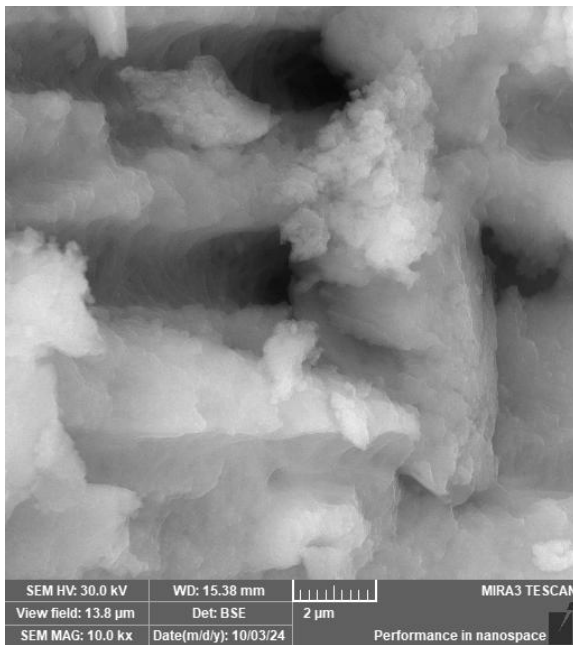
Grupo	Curados	No curados	RT	RNT	RAR	NNT	Eficacia%
NAC100mg	0	12	1	NA	0	ND	0
NAC200mg	0	9	1	NA	0	ND	0
NaClO 5.25%	10	3	0,23	NA	0,77	1.29	76,92
SS	0	11	1	1	0	ND	NA

Para determinar la eficacia de los irrigantes se evaluó la capacidad curativa de cada irrigante, donde NAC 100 y NAC 200 mostraron una tasa de riesgo (RT) de 1 y no lograron casos de curación, sin embargo, la eficacia reportada (0%) se refiere específicamente a la curación completa, y aunque NAC no presenta una eficacia del 100% se evidencia que en concentraciones de 200 mg logra una reducción considerable de la carga microbiana. NaClO 5.25% presento la

mayor eficacia (76.92%) con una tasa de riesgo (RT) de 0,23 lo cual indica una reducción del 77% en el riesgo respecto al control, logrando 10 casos curados de 13 tratados.

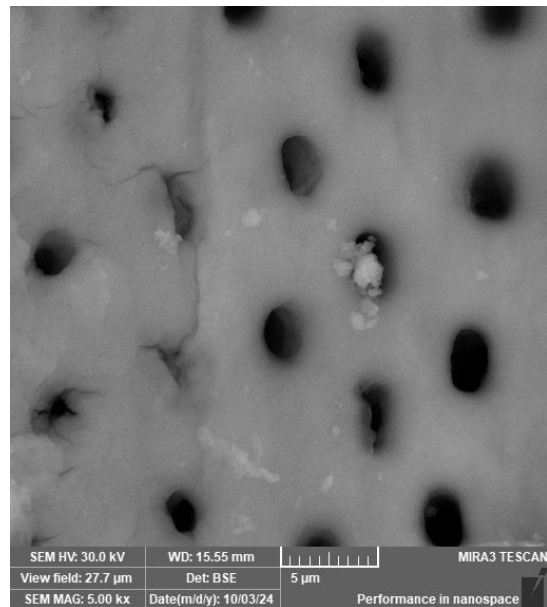
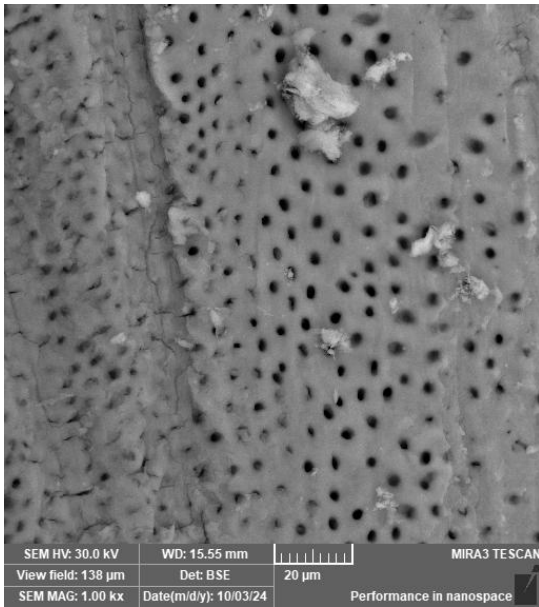
A través de la técnica de SEM, se consolidaron Microfotografías del sistema del conducto radicular de los dientes tratados y se evidenció que, en los dientes irrigados con NaClO, el conducto principal y los túbulos se observan libres de biofilm de *E. faecalis* y con pocos residuos de barrillo dentinario. En el caso de los dientes tratados con NAC100mg y 200mg, se observó abundante barrillo dentinario, así como una capa de “biopelícula” de *E. faecalis* a lo largo de todo el sistema. Finalmente, en el grupo control irrigado con NaCl se evidencia una capa densa que recubre totalmente el sistema del conducto radicular impidiendo identificar túbulos dentinarios (Ver figura 12).

Figura 12. Microfotografías tomadas con microscopio de barrido electrónico (SEM) de conductos radiculares de dientes humano contaminado *In vitro* con *E. faecalis* (ATCC29212) e irrigados con diversas sustancias.



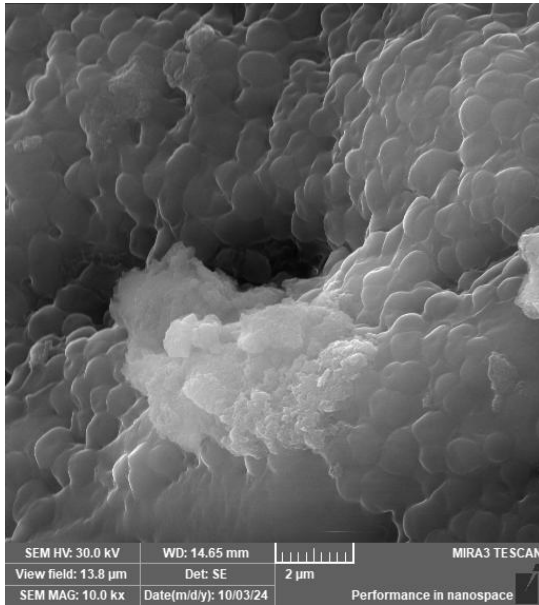
A. Microfotografía del sistema del conducto radicular de diente irrigado con NAC 100. La imagen sugieren una densa capa de biofilm bacteriano adherido a las superficies dentinarias evidenciando agrupaciones cocoides “cubiertas” con matriz extracelular penetrando los túbulos dentinarios

B. Microfotografía del sistema del conducto radicular de diente irrigado con NAC 200. En la imagen se puede observar zona de túbulos dentinales permeables, también se pueden observar zonas de densas sobrepuestas sobre algunos túbulos que se pueden asociar a material generado durante el proceso de instrumentación de la muestra asociado al barrillo dentinario que no fue eliminado durante el proceso de irrigación.

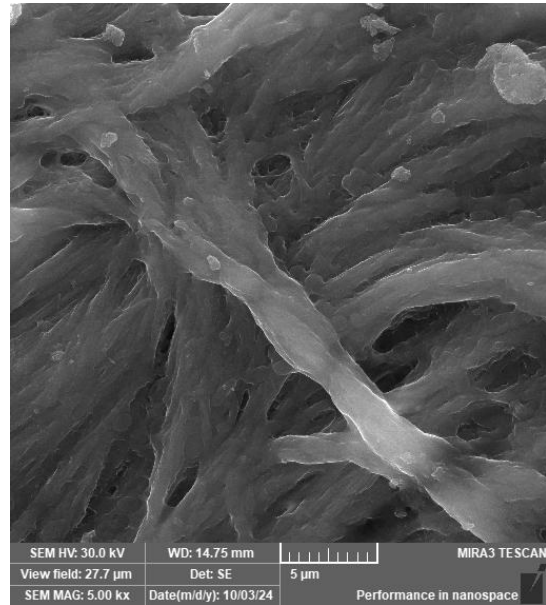


C. Microfotografía de sistema del conducto radicular de diente irrigado con NaClO. Se observan en algunas zonas irregularidades y presencia de barrillo dentinario. Sin embargo, se observan paredes y túbulos dentinarios sin biofilm posterior a la irrigación

D. Microfotografía de sistema del conducto radicular de diente irrigado con NaClO se observa en la superficie una capa mínima de residuo que pueden estar asociados a barrillo dentinario ocasionado durante el proceso de preparación del diente.



E. Microfotografías del sistema del conducto radicular de dientes irrigados con NaCl, se pueden observar densas redes de biofilm bacteriano adherido a las superficies dentinarias, se evidencia agrupaciones cocoides cubiertas por matriz extracelular que penetran los túbulos dentinales.



F. Microfotografías del sistema del conducto radicular de dientes irrigados con NaCl, la imagen sugiere una red de fibras colágenas en el espacio del conducto radicular entrelazadas entre si y en ellas se observan agrupaciones cocoides asociadas a la formación de un biofilm a nivel de los túbulos dentinales.

4. Discusión

Este estudio evaluó la eficacia de la NAC como irrigante frente a *E. faecalis*, NAC se usó en dos concentraciones NAC 100mg (Choi et al., 2017) y NAC 200mg (Quah et al., 2017) con el objetivo de determinar su eficacia en la desinfección de conductos radiculares, gracias a sus propiedades mucolíticas y antioxidantes. NAC se presenta en la literatura como una alternativa prometedora, principalmente por su capacidad para degradar biopelículas y con ello podría potenciar la eliminación de microorganismos persistentes en el sistema de conductos radiculares.

Los resultados de este estudio demuestran que NAC, en concentraciones de 100 mg y 200 mg, reduce significativamente la carga microbiana de *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares, aunque con una eficacia inferior al NaClO al 5.25%, el cual mostró el mayor

porcentaje de reducción bacteriana (100%) y eficacia clínica (76.92%); no obstante, su alta citotoxicidad limita su uso seguro ya que presenta un pH extremadamente alcalino (11-12,9), lo cual induce el daño tisular severo (Marcela et al., 2015), estudios *in vitro* demuestran que inhibe la migración de neutrófilos y causa marcada injuria celular, lo que explica complicaciones clínicas como dolor intenso, edema, hemorragia y necrosis cuando hay extrusión tejidos periapicales o blandos (Byström & Sunqvist, 1985).

Estos hallazgos sugieren que la NAC podría considerarse como un irrigante coadyuvante en endodoncia, especialmente en casos donde el NaClO esté contraindicado, como en pacientes con alergias o sensibilidad tisular (Aldini et al., 2018).

Estudios previos como el de Choi et al, 2017 reportan que NAC 100mg presenta eficacia en la eliminación y degradación de células presentes en biopelículas endodónticas maduras multiespecie, (*Actinomyces naeslundii*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*), en bloques de dentina humana estéril, por lo cual también se determinó que la dentina no afecta la actividad de NAC 100mg (Choi et al, 2018), diferente a otros irrigantes como la CHX donde se observó que la dentina inhibe la actividad antibacteriana (Portenier et al., 2001). Estos hallazgos sugieren el potencial de NAC en el tratamiento del conducto radicular. Sin embargo, en nuestro trabajo la eficacia fue mucho menor, lo cual podría relacionarse con que su mecanismo de acción y eficacia pueden variar según las condiciones del pH lo cual puede influir en los resultados y dicho parámetro no se tuvo en cuenta en este estudio.

La NAC actúa como agente mucolítico, rompiendo los puentes disulfuro en la matriz extracelular de las biopelículas, esta acción facilita la penetración de otros agentes antimicrobianos, como se demostró en el estudio de Khosravi et al, 2019 donde se destacó que el

efecto antibiofilm de la NAC depende críticamente de factores como el tiempo de exposición (óptimo >3 minutos), el pH del medio y la presencia de coadyuvantes.

Según Darrag ,2013 el mecanismo de acción de NAC se atribuye principalmente a su grupo tiol (-SH), que reacciona con los enlaces disulfuro de las proteínas bacterianas, causando daños irreversibles en estructuras esenciales para el crecimiento y metabolismo bacteriano. Este efecto es particularmente relevante contra biopelículas maduras, donde la NAC mostró una proporción significativamente mayor de células muertas (0.94 ± 0.17) en comparación con otros irrigantes cuando se evaluó mediante microscopía.

Estos hallazgos sugieren que la NAC podría emplearse efectivamente como coadyuvante en protocolos de irrigación combinada, particularmente en casos de infecciones persistentes o retratamientos endodónticos. Sin embargo, es importante considerar las limitaciones señaladas por Khosravi et al,2019 que coinciden con nuestras observaciones: la eficacia de la NAC como agente único, aunque significativa, no alcanza los niveles del NaClO en su concentración estándar.

La reducción del 49,6 % y 66,6 % observada con NAC 100 mg y NAC 200 mg, respectivamente, corrobora estudios previos que destacan su capacidad para disrumir biopelículas bacterianas mediante la ruptura de puentes disulfuro (Quah et al., 2012; Choi et al., 2017). Sin embargo, la amplia variabilidad en los rangos de UFC/mL (60–257,000) sugiere que su eficacia podría depender de factores como la madurez del biofilm o la anatomía del conducto, limitaciones propias de los modelos *ex vivo* (Swimberghe et al., 2018).

A diferencia del NaClO al 5.25%, que logró un 76.92% de casos curados (10/13), la NAC 100 y 200mg no alcanzó curación completa en ningún caso (eficacia 0%). Esto podría atribuirse a su mecanismo de acción, que, aunque efectivo para reducir la carga bacteriana, no garantiza la esterilización completa requerida en endodoncia (Siqueira & Rôças, 2021). No obstante, su perfil

de biocompatibilidad y propiedades mucolíticas podrían justificar su uso combinado con otros irrigantes para mejorar la penetración en áreas anatómicamente complejas (Alghamdi et al., 2022).

Como se observa en nuestro estudio y confirma Darrag, 2013, el NaClO al 5.25% sigue siendo el irrigante más efectivo. El estudio de Darrag reportó que el NaClO 5.25% fue particularmente eficaz contra *Streptococcus mutans* (3.91 ± 0.12 log UFC) en comparación con *E. faecalis* (6.09 ± 0.18 log UFC), sugiriendo diferencias en la sensibilidad bacteriana que podrían explicar por qué en nuestro trabajo el NaClO 5.25% logró eliminar completamente la carga microbiana en el 76.92% de los casos.

Este estudio presenta limitaciones que deben considerarse al interpretar los resultados. En primer lugar, el modelo *ex vivo* con dientes extraídos no replica completamente las condiciones clínicas *in vivo*, donde factores como la respuesta inmune del huésped podrían influir en la eficacia de los irrigantes. Además, el corto tiempo de seguimiento del estudio y la cantidad de la muestra no son significantes; finalmente, la heterogeneidad en los resultados de los grupos de NAC 100 y 200mg (evidenciada por los amplios rangos de UFC/mL) sugiere que factores como las variaciones anatómicas entre los dientes o diferencias en la madurez del biofilm podrían haber influido en los resultados, lo que amerita estudios más controlados para establecer protocolos estandarizados. Estas limitaciones, comunes en estudios piloto, resaltan la necesidad de futuras investigaciones que incorporen modelos más cercanos a las condiciones clínicas reales.

En conclusión, nuestros hallazgos muestran que la NAC en las dos concentraciones evaluadas son una alternativa para combatir *E. faecalis* en la práctica endodóntica. Es importante continuar investigando su uso en endodoncia para mejorar los protocolos de desinfección. La NAC tiene el potencial de contribuir al éxito del tratamiento endodóntico, y su uso en combinación con otros irrigantes o técnicas de activación podría potenciar su efecto antibacteriano.

6. Conclusiones

La N-Acetilcisteína tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de *E. faecalis* y podría funcionar como una alternativa de sustancia irrigante al momento de desinfectar el conducto radicular durante el tratamiento de endodoncia, sin embargo, esta capacidad es menor a la que tiene el NaClO al 5,25% que logró una reducción del 100% en los recuentos de UFC y una eficacia del 76.92%. Esto reafirma que el NaClO sigue siendo el irrigante de elección para la desinfección endodóntica debido a su acción bactericida y disolución tisular. NAC, por sus propiedades antioxidantes y bactericidas, podría representar una alternativa prometedora en contextos específicos o como coadyuvante en los protocolos de irrigación final, pero se requieren estudios adicionales para validar su aplicación clínica.

7. Recomendaciones

Evaluar la eficacia de la N-Acetilcisteína en otros estudios, ya que un estudio *ex vivo* está sujeto a tener errores o sesgos al tratar de simular unas condiciones reales.

Realizar estudios donde se prueben otras concentraciones de N-Acetilcisteína, y su mecanismo de acción en combinación con otros irrigantes.

Determinar la eficacia de N-Acetilcisteína frente a otras especies bacterianas comunes en patologías pulpares.

Referencias

Adón, A. Y., & Echavarría, H. M. (2021). Enterococcus faecalis: Factores de virulencia e importancia clínica en el área odontológica [Tesis de grado]. Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña.

[https://repositorio.unphu.edu.do/bitstream/handle/123456789/3748/Enterococcus%20faecalisfactores%20de%20virulencia%20e%20importancia%20cl%C3%ADnica%20en%20el%20%C3%A1rea%20odontol%C3%B3gicaBr.%20Anyelina%20Yamilet%20Ad%C3%B3n%20y%20Echavarr%C3%ADa%20H.%20M.%20\(2021\).%20Enterococcus%20faecalis%20Factores%20de%20virulencia%20e%20importancia%20cl%C3%ADnica%20en%20el%20%C3%A1rea%20odontol%C3%B3gica%20\[tesis%20de%20grado\].%20Universidad%20Nacional%20Pedro%20Henr%C3%ADquez%20Ure%C3%B1a.%202021%20.pdf](https://repositorio.unphu.edu.do/bitstream/handle/123456789/3748/Enterococcus%20faecalisfactores%20de%20virulencia%20e%20importancia%20cl%C3%ADnica%20en%20el%20%C3%A1rea%20odontol%C3%B3gicaBr.%20Anyelina%20Yamilet%20Ad%C3%B3n%20y%20Echavarr%C3%ADa%20H.%20M.%20(2021).%20Enterococcus%20faecalis%20Factores%20de%20virulencia%20e%20importancia%20cl%C3%ADnica%20en%20el%20%C3%A1rea%20odontol%C3%B3gica%20[tesis%20de%20grado].%20Universidad%20Nacional%20Pedro%20Henr%C3%ADquez%20Ure%C3%B1a.%202021%20.pdf)

2015-

2699%20y%20Br.%20Hanser%20Mois%c3%a9s%20Echavarr%c3%ada%20161223%20

.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Aldini, G., Altomare, A., Baron, G., Vistoli, G., Carini, M., Borsani, L., & Sergio, F. (2018). N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: The reasons why. *Free Radical Research*, *52*(7), 751-762. <https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1468564>

Alghamdi, F., & Shakir, M. (2020). The influence of *Enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: A systematic review. *Cureus*, *12*(3), e7257. <https://doi.org/10.7759/cureus.7257>

Alghamdi, F., Alnefaie, M., Almadi, K., Alqedairi, A., & Alhadlaq, A. (2022). Current trends in root canal irrigation. *International Journal of Dentistry*, *2022*, Article 9314594. <https://doi.org/10.1155/2022/9314594>

Ana, A. G. (2018). Formación de biofilms bacterianos sobre dos superficies de implantes dentales con distinta rugosidad: estudio in vitro. <https://docta.ucm.es/entities/publication/0953671d-20a8-42ae-8165-97276d5c2ab7>

Archambaud, C., Nunez, N., da Silva, R. A. G., Kline, K. A., & Serror, P. (2024). *Enterococcus faecalis*: An overlooked cell invader. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *88*(3), e0006924. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00069-24>

Arias-Moliz, M. T., Ordinola-Zapata, R., Baca, P., Ruiz-Linares, M., & Ferrer-Luque, C. M. (2019). Antimicrobial activity of chlorhexidine, peracetic acid and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilms. *International Endodontic Journal*, *52*(7), 975-983. <https://doi.org/10.1111/iej.13085>

- Badillo Córdova, M. J. (2023). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de canela, hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina sobre cepas de *Enterococcus faecalis* [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional de Chimborazo. Repositorio institucional UNACH.
- Barajas-Cortéz, M. G., Lo Villegas-Medina, L., & Gutiérrez, O. Q. (s. f.). Manual de Endodoncia básica. Odontoinfo.com. <https://www.odontoinfo.com/wp-content/uploads/2021/08/Manual-de-Endodoncia-basica-V6.pdf>
- Barbosa-Ribeiro, M., Gomes, B. P., Arruda-Vasconcelos, R., De Albuquerque Monteiro, I., Costa, M. J. F., & Sette-De-Souza, P. H. (2024). Antibiotic Resistance Profile of Clinical Strains of Enterococci from Secondary/Persistent Endodontic Infections: What do We Know? A Systematic Review of Clinical Studies. *Journal of Endodontics*, *50*(3), 299-309. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2023.12.007>
- Bouillaguet, S., Manoil, D., Girard, M., Louis, J., Gaïa, N., Leo, S., Schrenzel, J., & Lazarevic, V. (2018). Root Microbiota in Primary and Secondary Apical Periodontitis. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 2374. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02374>
- Botero, M. M., Gómez, B. G., Orozco, A. C., López, S. C., Peláez, D. C., & Castillo, E. C. (2019). Hipoclorito de sodio como irrigante de conductos. Caso clínico, y revisión de literatura. *Avances en Odontoestomatología*, *35*(1), 33-43. <https://doi.org/10.4321/s0213-12852019000100005>
- Byström, A., & Sunqvist, G. (1985). The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *International Endodontic Journal*, 18(1), 35–40. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1985.tb00416.x>

- Choi, Y., Kim, C., Moon, J., & Lee, J. (2017). Removal and killing of multispecies endodontic biofilms by N-acetylcysteine. *Brazilian Journal of Microbiology*, *49*(1), 184-188. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.04.003>
- Covo Morales, E., Díaz Caballero, A., & Simancas Pallares, M. (2016). Expresión del gen esp (enterococcus surface protein) de *Enterococcus faecalis* en un modelo in vitro de dientes extraídos. *Avances en Odontoestomatología*, *32*(4), 195-204.
- Cruzado Vidal, K. B. (2009). Evaluación in vitro de la eficacia antibacteriana de dos irrigantes endodónticos hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina, frente a una cepa de *Fusobacterium nucleatum* [Tesis de Bachiller en Estomatología]. Universidad Nacional de Trujillo. <https://hdl.handle.net/>
- Darrag, A. M. (2013). Antimicrobial efficacy of endodontic irrigation solutions against planktonic microorganisms and dual-species biofilm. *Tanta Dental Journal*, 10(3), 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.tdj.2013.11.005>
- Elashiry, M. M., Bergeron, B. E., & Tay, F. R. (2023). *Enterococcus faecalis* in secondary apical periodontitis: Mechanisms of bacterial survival and disease persistence. *Microbial Pathogenesis*, *183*, 106337. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106337>
- Ferrer-Luque, C., Bejarano, I., Ruiz-Linares, M., & Baca, P. (2014). Reduction in *Enterococcus faecalis* counts - a comparison between rotary and reciprocating systems. *International Endodontic Journal*, *47*(4), 380-386.
- Fiorillo, L., D'Amico, C., Meto, A., Mehta, V., Lo Giudice, G., & Cervino, G. (2024). Sodium Hypochlorite Accidents in Endodontic Practice: Clinical Evidence and State of the Art. *The Journal of Craniofacial Surgery*, *35*(7), e636-e645. <https://doi.org/10.1097/SCS.00000000000010407>

- Gomes, B. P. F. A., Aveiro, E., & Kishen, A. (2023). Irrigants and irrigation activation systems in Endodontics. *Brazilian Dental Journal*, *34*(4), 1-33. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202305577>
- Guerrero, B. E. F., & Callire, L. y. G. (2019). Interacciones entre soluciones irrigantes durante el tratamiento de endodoncia. *Revista Médica Basadrina*, *11*(1), 56-59. <https://doi.org/10.33326/26176068.2017.1.616>
- Gurria, A., Vilchis, S. A., González Ch, E. D., Rodríguez, A., & Treviño, R. (2018). Irrigantes endodónticos. *Revista Mexicana de Estomatología*, *5*. <file:///C:/Users/Musica%20y%20Videos/Downloads/195-947-2-PB.pdf>
- Haapasalo, M., Shen, Y., Wang, Z., & Gao, Y. (2014). Irrigation in endodontics. *British Dental Journal*, *216*(6), 299-303. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2014.204>
- Hasna, A. A., Khoury, R. D., Toia, C. C., Gonçalves, G. B., De Andrade, F. B., Carvalho, C. A. T., Camargo, C. H. R., & Valera, M. C. (2020). Evaluation of the Antimicrobial Effect of N-acetylcysteine and Photodynamic Therapy on Root Canals Infected with *Enterococcus faecalis*. *Iranian Endodontic Journal*, *15*(4), 236-245. <https://doi.org/10.22037/iej.v15i4.26865>
- Hernández, V. A. G., Sandoval, J. y. S., Zambrano, D. A. C., & Conde, B. C. B. (2023). Efecto de distintos irrigantes en la eliminación del barrillo dentinario durante el tratamiento endodóntico. Revisión de literatura. *Anatomía Digital*, *6*(4.3), 319-328. <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i4.3.2808>
- Iftekhar, H., Kumar, A., & Tamanna, S. (2019). Intracanal medicaments - Their use in modern endodontics: A narrative review. *Journal of Oral Research and Review*, *11*(2), 94. https://doi.org/10.4103/jorr.jorr_3_19

- Jaramillo, D. E., Aguilar, E., Arias, A., Ordinola-Zapata, R., Aprecio, R. M., & Ibarrola, J. L. (2016). Root canal disinfection comparing conventional irrigation vs photon-induced photoacoustic streaming (PIPS) using a buffered 0.5% sodium hypochlorite solution. *Evidence-Based Endodontics*, *1*(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s41121-016-0006-6>
- Jorge, R. C. (2022). Las soluciones irrigadoras más comunes en Endodoncia: hipoclorito de sodio, clorhexidina y ácido etilendiamino tetracético [Tesis]. Universidad Católica de Valencia. <http://hdl.handle.net/20.500.12466/2548>
- Karamifar, K., Tondari, A., & Saghiri, M. A. (2020). Endodontic Periapical Lesion: An Overview on Etiology, Diagnosis and Current Treatment Modalities. *European Endodontic Journal*. <https://doi.org/10.14744/ej.2020.42714>
- Karayasheva, D., & Radeva, E. (2017). Importance of Enterococci (*Enterococcus faecalis*) for Dental Medicine? Microbiological Characterization, Prevalence and Resistance. *International Journal of Science and Research*, *6*(7), 1970-1973. <https://doi.org/10.21275/ART20175821>
- Khosravi, M. R., Khonsha, M., & Ramazanzadeh, R. (2019). Combined Effect of Levofloxacin and N-Acetylcysteine against *Enterococcus faecalis* Biofilm for Regenerative Endodontics: An in Vitro Study. *Iranian Endodontic Journal*, *14*(1), 40-46. <https://doi.org/10.22037/iej.v14i1.21245>
- Llop Grima, M. A. (2022). Las soluciones irrigadoras más comunes en Endodoncia: hipoclorito de sodio, clorhexidina y ácido etilendiamino tetracético. Universidad Católica de Valencia. <https://riucv.ucv.es/handle/20.500.12466/2548>

- Marcela, A. M. D., Yineth, P. P. N., Tatiana, P. U. A., & Wilmer, P. V. (2015). Alteraciones de los tejidos periapicales por la extrusión de hipoclorito de sodio en tratamientos de endodoncia. <https://repository.usta.edu.co/items/b58e7477-747f-49cc-a243-57c591e55fea>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2020). IV Estudio Nacional de Salud Bucal (ENSAB IV). Colombia.
- Muñoz-Padilla, M. B., Vega-Martínez, V. A., & Sánchez-Sandoval, P. A. (2023). Eficacia del hipoclorito de sodio en irrigación de conductos radiculares. *Revista de Información Científica*, *102*(2 Sup.), e4412. <https://revinfcientifica.sld.cu/index.php/ric/article/view/4412>
- Organización Mundial de la Salud. (2022). Informe mundial sobre la salud bucodental.
- Organización Panamericana de la Salud. (2021). Oral health in the Americas.
- Paiva, S. M., Abreu-Placeres, N., Camacho, M. E. I., Frias, A. C., Tello, G., Perazzo, M. F., & Pucca-Júnior, G. A. (2021). Dental caries experience and its impact on quality of life in Latin American and Caribbean countries. *Brazilian Oral Research*, *35*, e052. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0052>
- Park, D. H., Park, O. J., Yoo, Y. J., Perinpanayagam, H., Cho, E. B., Kim, K., Park, J., Noblett, W. C., Kum, K. Y., & Han, S. H. (2024). Microbiota Association and Profiling of Gingival Sulci and Root Canals of Teeth with Primary or Secondary/Persistent Endodontic Infections. *Journal of Endodontics*, *50*(8), 1124-1133. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2024.04.016>
- Patel, S., & Barnes, J. J. (2019). *The Principles of Endodontics* (3rd ed.). Oxford University Press.

- Pinto, K. P., Barbosa, A. F. A., Silva, E. J. N. L., Santos, A. P. P., & Sassone, L. M. (2023). What is the microbial profile in persistent endodontic infections? A scoping review. *Journal of Endodontics*, *49*(7), 786-798. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2023.05.010>
- Portenier, I., Haapasalo, H., Rye, A., Waltimo, T., Ørstavik, D., & Haapasalo, M. (2001). Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *International Endodontic Journal*, *34*(3), 184-188. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2001.00366.x>
- Quah, S. Y., Wu, S., Lui, J. N., Sum, C. P., & Tan, K. S. (2012). N-Acetylcysteine inhibits growth and eradicates biofilm of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*, *38*(1), 81-85. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.10.004>
- Ricucci, D., & Siqueira, J. F. (2010). Biofilms and apical periodontitis: Study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *Journal of Endodontics*, *36*(8), 1277-1288. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.04.007>
- Rochenszwalb-Muñoz, R., & Figueroa-Naranjo, L. (s. f.). Comparación de la concentración de hipoclorito de sodio en la atención dental entre dentistas generales y especialistas en endodoncia. *Avances en Odontoestomatología*. https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0213-12852023000500005&script=sci_arttext
- Rodrigues, L. K. A., & Gomes, B. P. F. A. (2018). Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Brazilian Oral Research*, *32*(Suppl 1), e69. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0069>
- Siqueira, J. F., & Rôças, I. N. (2020). Microbiology and treatment of endodontic infections. In K. M. Hargreaves, L. H. Berman, & L. A. Gutiérrez (Eds.), *Cohen's Pathways of the Pulp* (12th ed., pp. 321-350). Elsevier.

- Siqueira, J. F., & Rôças, I. N. (2021). Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *International Endodontic Journal*, *55*(S3), 512-530. <https://doi.org/10.1111/iej.13677>
- Sun, X., Yang, Z., Nie, Y., & Hou, B. (2022). Microbial Communities in the Extraradicular and Intraradicular Infections Associated With Persistent Apical Periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *11*, 798367. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.798367>
- Swimberghe, R. C. D., Coenye, T., De Moor, R. J. G., & Meire, M. A. (2018). Biofilm model systems for root canal disinfection: A literature review. *International Endodontic Journal*, *52*(5), 604-628. <https://doi.org/10.1111/iej.13050>
- Tenório, M. C. D. S., Graciliano, N. G., Moura, F. A., De Oliveira, A. C. M., & Goulart, M. o. F. (2021). N-Acetylcysteine (NAC): Impacts on Human Health. *Antioxidants*, *10*(6), 967. <https://doi.org/10.3390/antiox10060967>
- Tibúrcio-Machado, C. S., Michelon, C., Zanatta, F. B., Gomes, M. S., Marin, J. A., & Bier, C. A. (2020). The global prevalence of apical periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *International Endodontic Journal*, *54*(5), 712-735. <https://doi.org/10.1111/iej.13467>
- Torabinejad, M., Fouad, A. F., & Shabahang, S. (2021). *Endodoncia: Principios y práctica*. Elsevier Health Sciences.

Apéndices

Apéndice A. Operacionalización de variables.

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Nomenclatura	Medición de escala	Valor que asume la variable
Sustancia irrigante utilizada	Sustancia utilizada para desinfectar, limpiar y reducir carga	Capacidad de sustancia en diferentes concentraciones para inhibir el	Cualitativa	Nominal	NAC 100%: 0 NAC 200%: 1

	antimicrobiana presente en los conductos.	crecimiento de <i>E. faecalis</i> .				NaOH 5.25%: 2 NaCl 0.85%: 3
Tipo de diente	Clasificación que se le da al diente según su morfología y función.	Pieza utilizada para simular el tratamiento endodóntico e inoculación de <i>E. faecalis</i> .	Cualitativa	Nominal		Incisivo: 0 Canino: 1 Premolar: 2
Carga microbiana de <i>E. faecalis</i>	Numero de microorganismos como resultado de la contaminación de un objeto.	Número de unidades formadoras de colonias antes y después de la irrigación.	Cuantitativa	Razón		Numero en notación científica.

Apéndice B. Instrumento.

 UNIVERSIDAD SANTO TOMAS PRIMER CLAUSTRO UNIVERSITARIO DE COLOMBIA B U C A R A M A N G A			
Evaluación de la eficacia <i>ex vivo</i> de la N-acetilcisteína frente a <i>E. faecalis</i>			
NO. DIENTE	TIPO DE DIENTE		
	INCISIVO: 0	CANINO: 1	PREMOLAR: 2
	SUSTANCIA IRRIGANTE UTILIZADA		
	NAC 100: 0	NAC 200: 1	NaClO : 2
	RECUESTO UFC		
	1		2

Apéndice C. Plan de análisis estadístico.

OBJETIVO	VARIABLE A TRATAR	NATURALEZA	MEDIDA DE REFERENCIA
Efectividad sustancia irrigante.	Sustancia irrigante utilizada	Cualitativa	Frecuencias absolutas porcentajes
Clasificación del tipo de diente.	Morfología	Cualitativa	Frecuencias absolutas porcentajes
Numero de microorganismos presentes posterior a la irrigación.	Carga microbiana	Cuantitativa	Medidas de dispersión. Medidas de tendencias centrales Prueba de normalidad