

Disolución del tejido pulpar entre neem e hipoclorito de sodio, estudio in vitro ¹

María Paula Rincón Galindo²
Andrea Margoli Vidarte Quintero³
Román Andrés Santos Hoyos⁴

Resumen

Las soluciones irrigantes son un coadyuvante esencial en la terapia endodóntica para la completa desinfección del conducto radicular. Objetivo: Evaluar la capacidad de disolución del tejido pulpar humano utilizando extracto de *Azadirachta Indica* (Neem) en comparación con una solución de hipoclorito de sodio al 5,25% en pulpas de terceros molares y premolares sanos extraídos por indicación ortodóntica. Método: Se seleccionaron 24 terceros molares y premolares humanos extraídos, a los cuales se añadieron tres dientes adicionales para el estudio piloto. Posteriormente, se realizaron la instrumentación y se dividieron en tres grupos, cada uno compuesto por 8 terceros molares y premolares. Cada grupo fue tratado con una solución diferente: solución salina, hipoclorito de sodio al 5,25% y extracto de Neem (*Azadirachta Indica*). Luego, se realizó un corte longitudinal del tejido pulpar y se sumergió en las tres sustancias del estudio. Se llevó a cabo un pesaje inicial (en miligramos), seguido de lecturas a los quince y treinta minutos para evaluar la disminución del peso del tejido pulpar como resultado de la disolución. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza estadístico descriptivo con un nivel de significancia establecido en $p < 0,05$. Resultados: El extracto de *Azadirachta Indica* disolvió tejido pulpar, aunque el hipoclorito de sodio logró la disolución del tejido pulpar en un tiempo menor. Conclusiones: El extracto de *Azadirachta Indica* demostró tener la capacidad de disolver el tejido pulpar cuando se utilizó como agente irrigante, lo que sugiere su potencial como alternativa en el proceso de endodoncia.

Palabras clave: herbal; irrigante endodóntico; hipoclorito de sodio; Neem; disolución.

Dissolution of pulp tissue between neem and sodium hypochlorite, in vitro study**Abstract**

Irrigating solutions are an essential component in endodontic therapy for complete disinfection of the root canal. Objective: To evaluate the solubility of human pulp tissue using *Azadirachta Indica* (Neem) extract compared to a 5.25% solution of sodium hypochlorite in pulps of healthy third molars and premolars extracted by orthodontic indication. Method: 24 extracted human third molars and premolars were selected along with three additional teeth were added for the pilot study. Subsequently, the instrumentation was carried out and they were divided into three

¹ Artículo científico presentado como opción de grado para optar por el título de especialista en Endodoncia.

² Odontóloga egresada Fundación Universitaria San Martín. Grupo de investigación Universidad Santo Tomas, mariapaula1321@hotmail.com

³ Odontóloga egresada de UNICOC. Grupo de investigación Universidad Santo Tomas.

⁴ Odontólogo, especialista en endodoncia.

groups, each consisting of 8 third molars and premolars. Each group was treated with a different solution: saline solution, 5.25% sodium hypochlorite and Neem extract (*Azadirachta Indica*). A longitudinal cut of the pulp tissue was then carried out and the three substances in the study were immersed. An initial weighing (in milligrams) was carried out, followed by measurements every fifteen and thirty minutes to assess the decrease in the weight of the pulp tissue because of the dissolution. The data obtained were subjected to a descriptive statistical variance analysis with a level of significance set at $p < 0.05$. Results: The *Azadirachta Indica* extract dissolved pulp tissue, although sodium hypochlorite achieved dissolution of the pulp tissue in a shorter time. Conclusions: *Azadirachta Indica* extract has been shown to have the ability to dissolve pulp tissue when used as irrigating agent, suggesting its potential as an alternative irrigating agent.

Key words: Herbal; Endodontic irrigant; Sodium hypochlorite; Neem; Dissolution

Introducción

La desinfección completa del sistema de conductos es esencial para el éxito del tratamiento. Sin embargo, la complejidad de este sistema dificulta la eliminación del entorno microbiano. Por lo tanto, el irrigante o combinación de irrigantes óptimos debe ser capaz de disolver tanto los tejidos dentinarios inorgánicos como los orgánicos (tejido pulpar, colágeno, y biopelícula) (Bhavsar et al. 2022).

Es importante destacar que la disolución total de la pulpa es uno de los principales objetivos del tratamiento en endodoncia (Iandolo et al. 2019). A pesar de la instrumentación e irrigación cuidadosa, los conductos radiculares aún pueden albergar microorganismos cultivables, lo que subraya la necesidad de una preparación quimio-mecánica eficiente (Bhardwaj et al. 2017; Joy et al. 2017).

Sin embargo, debido a las variaciones morfológicas de los conductos radiculares, se reconoce que hasta un 50% de ellos pueden quedar sin instrumentar, lo que resulta en un desbridamiento insuficiente. Por lo tanto, los agentes químicos utilizados, además de poseer propiedades antimicrobianas, deben ser capaces de disolver tejido para alcanzar áreas inaccesibles (Arslan et al. 2015; Nunes et al. 2016).

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es el agente químico más utilizado y está considerado como el estándar de oro debido a que tiene la mayoría de las propiedades que debería tener un irrigante ideal (Agrawal et al. 2016; Barea et al., 2019; Iandolo et al. 2019; Montealegre et al. 2014; Saxena et al. 2015; Silva et al. 2013; Sundaram et al., 2016; Teja et al. 2021), pero tiene algunos inconvenientes (Saxena et al. 2015), uno de los cuales es su alta citotoxicidad (Sundaram et al. 2016). Un estudio encontró que a 0,254 $\mu\text{L/mL}$ (microlitros) la concentración letal media (CL50) causaba el 50% de la muerte de fibroblastos del ligamento periodontal (Wahjuningrum et al. 2019).

En relación con el hipoclorito de sodio, se ha observado en un estudio in vitro que incluso disoluciones tan bajas como 1:1000 provocan hemólisis completa en glóbulos rojos, mientras que disoluciones de 1:100 causan irritación moderada a severa en los ojos, la cual desaparece en un plazo de 24 a 48 horas. Además, inyecciones subcutáneas de concentraciones de 1:1000, 1:2 y

1:4 resultan en ulceraciones en la piel (Pashley et al. 1985). Otro estudio reporta una disminución en la viabilidad celular a 39,4%, 60,2%, 71,9% y 82,6% cuando las células son expuestas durante dos horas a concentraciones de 0.5, 0.1, 0.0125 y 0.005 mg/ml, respectivamente (Alkahtani et al., 2014).

En este contexto, el uso de fitoquímicos o agentes naturales ha surgido en el campo de la endodoncia como una alternativa para evitar los efectos secundarios y problemas de seguridad del NaOCl (Agrawal et al. 2016; Bhardwaj et al. 2017; Joy et al. 2017; Pravin and Raut, 2021). Según estudios, algunos agentes herbales pueden ser un irrigante efectivo y una alternativa viable al NaOCl (Ranjitha et al. 2020; Reshma Raj et al. 2020; Teja et al. 2021).

Se ha investigado el extracto de Neem como un agente antimicrobiano y en la eliminación de barrillo, pese a que no se ha considerado su capacidad para disolver el tejido pulpar humano, una de las características principales de un irrigante. Las propiedades de la *Azadirachta Indica* se han estudiado con otros agentes herbales como el extracto de *Allium Sativum* (Birring et al. 2015) y *Salvadora Persiga* (Jibin et al. 2022). Además, el Neem se ha utilizado en varios sectores industriales (Martínez et al. 2016) y está incluido en productos para el cuidado bucal (Chatterjee et al. 2011; Lakshmi et al. 2015).

La *Azadirachta Indica* se usa para tratar la periodontitis y otras enfermedades dentales debido a sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, astringentes, antisépticas e insecticidas (Naveed and Murthykumar, 2014). En la actualidad, incluso se pueden encontrar productos para la higiene dental a base de Neem, como cremas o enjuagues bucales (Chatterjee et al. 2011; Lakshmi et al. 2015).

Azadirachta Indica ha demostrado poseer una potente actividad antibacteriana contra una variedad de microorganismos, incluyendo *S. aureus*, *S. mutans* y *S. albicans*, así como sus variantes mixtas (Joy et al. 2017; Naveed y Murthykumar, 2014). Varios estudios respaldan esta afirmación, mostrando que el Neem exhibe una actividad antibacteriana superior en comparación con otros medicamentos herbales disponibles (Bhardwaj et al. 2017; Bhargava et al. 2015; Datta et al. 2016; Marne y Vidyapeeth, 2019). Además, se ha considerado como una alternativa herbal al uso de hipoclorito de sodio (NaOCl) para la irrigación, mostrando una eficacia igual o incluso superior frente a *E. faecalis* (Agrawal et al. 2016; Bhargava et al. 2015).

En consecuencia, el objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de disolución del tejido pulpar humano del extracto *Azadirachta Indica* (Neem) comparado con una solución de hipoclorito de sodio al 5,25% en pulpas de terceros molares y premolares sanos extraídos por indicación ortodóntica.

Metodología y recolección de datos

En este estudio experimental in vitro, se utilizaron 24 pulpas de terceros molares y premolares como muestra principal, seleccionadas por conveniencia, junto con otros tres dientes para llevar a cabo una prueba piloto.

Los dientes fueron extraídos por indicación ortodóntica. Se formaron tres grupos, según las soluciones utilizadas, NaOCl al 5,25%, extracto de Neem y control negativo con solución

salina normal, respectivamente. La investigación tiene en cuenta las variables de peso del tejido pulpar, tiempo de exposición y disolución del tejido.

Se utilizaron 25 gramos de *Azadirachta Indica* que se adicionaron en 50 ml de etanol para la preparación del extracto de Neem; la solución se mezcló uniformemente en un Vortex durante 5 minutos. La mezcla se pasó a un agitador durante 1 hora. El proceso Vortex garantiza que el Neem se distribuya adecuadamente en el etanol, lo que permite una extracción efectiva de los compuestos deseados del Neem. Después de la agitación del Vortex, el extracto final de Neem se utilizó para su aplicación posterior.

El procedimiento de filtración del *Azadirachta Indica* se realizó con papel filtro y un embudo, realizando un doble filtrado para asegurar la pureza del extracto. Este procedimiento garantizó la eliminación de impurezas y partículas no deseadas, logrando obtener un extracto limpio y listo para su posterior utilización.

Antes de la extracción, se realizaron pruebas de sensibilidad en el tejido pulpar para los dientes erupcionados. Los tejidos periodontales se retiraron con un cepillo, se colocaron con solución salina y se congelaron a -4°C durante no más de 2 días después de la extracción. Posteriormente, los dientes se biselaron longitudinalmente desde las secciones mesial y distal con una pieza de alta con refrigeración, fresas troncocónicas de extremo redondeado de diamante, se colocó un bisturí con cuchilla número 11 y se expuso el tejido pulpar, además se abrieron al final con espátula 7A para evitar daño de la pulpa. Se lavaron con solución salina para retirar los coágulos de sangre, se secaron con gasa y se sumergieron en las soluciones de prueba.

Se distribuyeron un total de veinticuatro muestras en tres grupos distintos, para el estudio de las soluciones: extracto de Neem (EN), hipoclorito de sodio al 5,25% (control positivo), y solución salina (control negativo). Cada grupo estaba compuesto por ocho muestras, lo que permitió una adecuada comparación entre los efectos de las diferentes soluciones. Esta estructura organizativa garantizó la consistencia y la eficacia del estudio.

El proceso de pesaje de las muestras comienza secándolas con papel filtro. Posteriormente, cada muestra se coloca en una caja de Petri sobre una balanza analítica previamente calibrada. Finalmente, se pesan las muestras en miligramos para garantizar una medición precisa y confiable de su masa.

En el proceso de inmersión en sustancias de control y prueba, se utilizaron placas de 24 pozos para la inmersión de las muestras, realizando dos intervalos de tiempo diferentes: 15 minutos y 30 minutos. Posteriormente, se llevó a cabo el mantenimiento a una temperatura de 37°C durante 15 o 30 minutos, según la etapa del experimento. Luego, las muestras fueron cuidadosamente secadas en papel filtro antes de proceder al pesaje, asegurando así condiciones óptimas para la medición precisa de las muestras.

Las muestras se enjuagaron con solución salina y se deshumidificaron con gasa. Se midieron los pesos iniciales en una báscula calibrada y se colocaron en tubos Eppendorf. Se resalta que se mantuvieron a una temperatura de 37°C en la solución experimental por 15

minutos, luego se sacaron de la incubadora, enjuagaron con solución salina y deshumidificaron con gasas.

Los pesos (miligramos) de las muestras se midieron en una balanza de precisión y se registraron los valores. Las muestras se colocaron nuevamente en los tubos Eppendorf y se sometieron a los mismos procesos del primer paso durante otros 15 minutos. Después de esperar los 15 minutos, se midieron los pesos finales de las muestras y se registraron los valores (Güçlüer et al., 2020). La disolución del tejido pulpar se reflejará en una disminución del peso del tejido en comparación con su peso inicial.

Se utilizó SPSS para la estadística descriptiva, el análisis de varianza (media de los datos - diferencia cuadrada) para determinar si hay diferencias entre los grupos (nivel de significancia $p < 0,05$). Los pacientes firmaron el consentimiento de donación órganos (obtener el tejido pulpar), los dientes utilizados estaban programados para extracción por razones ortodónticas.

Resultados

La prueba piloto se realizó con una muestra para cada una de las soluciones: extracto de etanol de Neem (NE), NaOCl al 5,25% (control positivo) y solución salina (control negativo).

En las observaciones del estudio experimental, para la solución salina (control negativo) no mostró disolución, mientras que para hipoclorito de sodio se observó que se produjo disolución del tejido pulpar en diferentes intervalos de tiempo: una muestra se desintegró a los 8 minutos, dos muestras a los 18 minutos, otra a los 20 minutos, y dos más a los 26 minutos. Finalmente, las últimas dos muestras a los 28 minutos. Esto indica que hubo una disolución del tejido pulpar dentro del tiempo máximo de 30 minutos (figura 1).

Figura 1. Observaciones para el hipoclorito de sodio

Tiempo (minutos)		Inicial	15 min	30 min
HIPOCLORITO DE SODIO	Muestra 1	5.0 mg	3.2 mg	0 mg
	Muestra 2	3.8 mg	2.6 mg	0 mg
	Muestra 3	8.6 mg	2.8 mg	0 mg
	Muestra 4	2.9 mg	0 mg	0 mg
	Muestra 5	11.7 mg	2.7 mg	0 mg

Con la sustancia NEEM, se observaron diferentes resultados en cuanto a la disolución del tejido pulpar en las muestras tratadas. En la muestra 1, que inicialmente tenía un peso de 6.2mg, se registró una disminución del peso a 4.3 mg después de 15 minutos y a 3.0 mg después de 30 minutos. Similarmente, en la muestra 2, cuyo peso inicial era de 6.4 mg, se observó una disminución progresiva a 5.0 mg y 3.9 mg después de 15 y 30 minutos respectivamente. Por otro lado, la muestra 3, con un peso inicial de 20.4 mg, mostró una reducción a 13.5 mg y 10.8 mg después de 15 y 30 minutos. Las muestras 4 y 5 también mostraron disminuciones en sus pesos a lo largo del tiempo, mientras que las muestras 6, 7 y 8 exhibieron variaciones similares, aunque con pesos iniciales y finales más bajos en comparación con las primeras muestras (figura 2).

Figura 2. *Observaciones para la sustancia Neem*

Tiempo (minutos)		Inicial	15 min	30 min
SUSTANCIA NEEM	Muestra 1	6.2 mg	4.3 mg	3.0 mg
	Muestra 2	6.4 mg	5.0 mg	3.9 mg
	Muestra 3	20.4 mg	13.5 mg	10.8 mg
	Muestra 4	6.5 mg	6.2 mg	3.8 mg
	Muestra 5	6.6 mg	5.0 mg	3.5 mg

Los resultados proporcionan la información sobre la descripción y comparación de la pérdida de peso del tejido pulpar humano bajo las diferentes sustancias y tiempos de exposición.

La sustancia Neem disolvió el tejido pulpar, aunque el hipoclorito de sodio logró la disolución del tejido pulpar en un periodo de tiempo menor comparado a la sustancia en estudio (valor $p > 0.05$). Esto sugiere una relación significativa entre el tiempo y la disolución del tejido pulpar.

Discusión y conclusiones

Azadirachta Indica es una planta medicinal ampliamente reconocida por sus propiedades terapéuticas en diversas áreas de la medicina, incluida la odontología. En el contexto de la endodoncia, se ha investigado su potencial como agente irrigante debido a sus características antimicrobianas y biocompatibilidad (Lakshmi et al. 2015).

El hipoclorito de sodio ha sido ampliamente utilizado en endodoncia debido a su eficacia en la desinfección del sistema de conductos radiculares. Sin embargo, su uso no está exento de posibles complicaciones, como se ha señalado en estudios previos (Srinivasan et al. 2020). Por lo tanto, existe un interés creciente en la búsqueda de alternativas, como el Neem, que puedan ofrecer beneficios similares con menos efectos secundarios potenciales.

Sin embargo, hasta la fecha, hay pocos estudios que comparen directamente el Neem con el hipoclorito de sodio, el irrigante estándar en endodoncia, en términos de su capacidad para disolver tejido orgánico, que es el aspecto de interés primordial en nuestra investigación. Esta limitación restringe la posibilidad de realizar comparaciones más científicas y precisas.

En el presente estudio se observó que la sustancia Neem disolvió el tejido pulpar, lo que concuerda con los hallazgos de Rao et al (2017). Aunque en ambos estudios, el hipoclorito de sodio lo disolvió en un periodo de tiempo menor. Además, los resultados del presente estudio sugieren una relación significativa entre el tiempo y la disolución del tejido pulpar. A este respecto, estudios previos respaldan estas conclusiones. Por ejemplo, un estudio realizado por Só et al. (2011), demostró que, independientemente de la concentración de NaOCl, cuando se combinó EDTA con NaOCl, la combinación resultante fue menos eficaz que el hipoclorito de sodio solo para disolver el tejido pulpar. Asimismo, investigaciones adicionales, como la llevada a cabo por Tartari et al. (2016), señalaron que el aumento de la concentración de NaOCl y el

tiempo de contacto intensificaron la disolución de la materia orgánica. Los resultados del presente estudio sugieren la importancia de la sustancia preparada de Neem en la disolución del tejido pulpar.

Es importante destacar que, en el presente estudio, aunque el Neem mostró una disolución del tejido pulpar en un tiempo más prolongado en comparación con el hipoclorito de sodio, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las varianzas de ambos agentes. Esto sugiere que, si bien pueden existir diferencias en la eficacia de la disolución del tejido pulpar entre los dos agentes, estas diferencias no son estadísticamente significativas.

Estudios previos han evaluado la capacidad de diferentes agentes irrigantes para disolver el tejido pulpar, con resultados variables. Por ejemplo, el estudio de Hadhoud & Abdel-Kader (2019) encontró que el hipoclorito de sodio presentó en menor tiempo una mayor capacidad de disolución tisular en comparación con otros agentes probados, lo que respalda los hallazgos del presente estudio.

El estudio de Güçlüer et al. (2020), evaluó los efectos de los de *Sapindus mukorossi* en la disolución de tejido pulpar humano. Encontraron que los extractos de *Sapindus mukorossi* tenían la capacidad de disolver tejido pulpar, aunque en menor medida que el hipoclorito de sodio (NaOCl), que fue utilizado como grupo de control positivo y mostró la mejor capacidad de disolución. Por otro lado, en el presente estudio sobre el Neem, se encontraron resultados similares, donde el hipoclorito de sodio fue más efectivo que el Neem en la disolución del tejido pulpar. Aunque es importante tener en cuenta que los extractos de *Sapindus mukorossi* y Neem son diferentes, y sus capacidades de disolución pueden variar debido a sus propiedades y la composición química.

Por lo que, aunque los extractos de plantas como el Neem y *Sapindus mukorossi* tienen cierta capacidad para disolver tejido pulpar, su eficacia es menor en comparación con el hipoclorito de sodio.

Aunque el Neem muestra promesa como agente irrigante en endodoncia, se necesitan más investigaciones de diferentes agentes herbales, especialmente estudios comparativos directos con el hipoclorito de sodio, para comprender completamente la eficacia y seguridad en la práctica clínica.

No obstante, la escasez de estudios sobre sustancias fitoterapéuticas como el *neem*, el propóleo, el extracto de moringa no permite llegar a comparaciones más directas sobre su uso en la práctica clínica.

El tamaño de la muestra es solo una de las limitaciones inherentes de la metodología del estudio.

Debido a que los extractos en su capacidad para desinfectar los conductos radiculares y su capacidad para disolver el tejido pulpar en un tiempo más corto que el Neem, el hipoclorito de sodio sigue siendo el estándar en los irrigantes endodónticos. Sin embargo, la sustancia objeto de estudio *Azadirachta Indica* (Neem) demostró que puede disolver hasta un 70,31% de tejido

pulpar humano. De esta manera, el Neem parece tener la capacidad de actuar como un agente irrigante en el proceso de endodoncia.

Aunque la sustancia fitoquímica muestra promesa como agente irrigante en endodoncia, se necesitan más investigaciones para comprender completamente la eficacia y seguridad en la práctica clínica a diferentes concentraciones.

Se concluye que el tiempo mínimo en el que el hipoclorito de sodio disolvió el tejido pulpar fue de 15 minutos y el tiempo máximo fue de 28 minutos.

Sin embargo, el Azadirachta Indica parece tener la capacidad de actuar como un agente irrigante, se necesitan más estudios in vitro, especialmente para comprender completamente su eficacia y seguridad en la práctica clínica.

Referencias

- Agrawal, V., Kapoor, S. and Agrawal, I. (2016). Critical Review on Eliminating Endodontic Dental Infections Using Herbal Products. *Journal of Dietary Supplements*, 0 (0), 1–12. <https://doi.org/10.1080/19390211.2016.1207004>
- Alkahtani, A., Alkahtany, S. M. and Anil, S. (2014). An in vitro evaluation of the cytotoxicity of varying concentrations of sodium hypochlorite on human mesenchymal stem cells. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 15(4), 473–481. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1565>
- Arslan, D., Guneser, M. B., Kustarci, A., Er, K. and Siso, S. H. (2015). Pulp tissue dissolution capacity of QMix 2 inl irrigation solution. *European Journal of Dentistry*, 9(3), 423–427. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.163229>
- Barea, K., Bangel, I., Feijolo, D., Cardoso, M., Soares, F. and Montagner, F. (2019). Calcium hypochlorite solutions – An in vitro evaluation of antimicrobial action and pulp dissolution. *European Endodontic Journal*, 4(1), 15–20. <https://doi.org/10.14744/eej.2018.64936>
- Bhardwaj, A., Srivastava, N., Rana, V., Adlakha, V. and Asthana, A. (2017). How efficacious are Neem, Tulsi, Guduchi extracts and chlorhexidine as intracanal disinfectants? A comparative exvivo study. *International Quarterly Journal of Research in Ayurveda*, 38(1), 70. https://doi.org/10.4103/ayu.ayu_72_16
- Bhargava, K., Kumar, T., Patil, P., Sanap, A., Zinzarde, S. and Aggarwal, S. (2015). Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of neem, green tea, triphala and sodium hypochlorite: An in vitro study. *Journal of Dental Research and Review*, 2(1), 13. <https://doi.org/10.4103/2348-2915.154638>
- Baruwa AO, Martins JNR, Maravic T, Mazzitelli C, Mazzoni A, Ginjeira (2022). A. Effect of Endodontic Irrigating Solutions on Radicular Dentine Structure and Matrix Metalloproteinases—A Comprehensive Review. *Dentistry Journa*, 10(12):219. <https://doi.org/10.3390/dj10120219>
- Bhavsar, B. A., Selvi, T., Paliwal, A., Ansari, F., Beohar, D. S., & Joseph, T. (2022). Effect of Herbal and Chemical Solution in Tissue Dissolution by using Conventional Irrigation and Sonic Irrigation System. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 14(1), S863–S867. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_28_22

- Birring, O. J. S., Vilorio, I. L. and Nunez, P. (2015). Anti-microbial efficacy of *Allium sativum* extract against *Enterococcus faecalis* biofilm and its penetration into the root dentin: An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*, 26(5), 477–482. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.172041>
- Chatterjee, A., Saluia, M., Singh, N. and Kandwal, A. (2011). To evaluate the antigingivitis and antipalque effect of an *Azadirachta indica* (neem) mouthrinse on plaque induced gingivitis: A double blind, randomized, controlled trial. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(4), 398–401. doi: 10.4103/0972-124X.92578
- Datta, S., Chand, G., Sashidhar, K., Sunil, C., Hemadri, M. and Ranga, D. (2016). Evaluation of antimicrobial efficacy of neem and Aloe vera leaf extracts in comparison with 3% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine against *E. faecalis* and *C. albicans*. *Journal of Health Sciences*, 5(2), 104–110. <https://doi.org/10.4103/2277-8632.185436>
- Gomes, B., 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>
- Güçlüer, Ö., Akarsu, E., Yavuz, E., Er, K. and Kuştarıcı, A. (2020). Human pulp tissue dissolution ability of different extracts of *Sapindus mukorossi*: An in vitro study. *Chinese Herbal Medicines*, 12(2), 178–182. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2019.11.005>
- Hadhoud, F., & Abdel-Kader, K. (2019). Comparative evaluation of the tissue dissolution capability of 3% of sodium hypochlorite, 5% pomegranate, and 5% miswak. *Egyptian Dental Journal*, 65(3), 2867–2873. doi: 10.21608/edj.2019.72683
- Iandolo, A., Dagna, A., Poggio, C., Capar, I., Amato, A. and Abdellatif, D. (2019). Evaluation of the actual chlorine concentration and the required time for pulp dissolution using different sodium hypochlorite irrigating solutions. *Journal of Conservative Dentistry*, 22(2), 108–113. https://doi.org/10.4103/JCD.JCD_165_19
- Jibin, V., Ranjini, M., Swapna, D., Bharathi, M., Nadig, R. and Vedavathi, B. (2022). Evaluation of antimicrobial action, pulp tissue dissolution, and smear layer removal of an experimental irrigant combining *Salvadora persica* and sodium hypochlorite with and without ultrasonic activation: An in vitro study. *International Journal of Preventive and Clinical Dental Research*, 9(3), 63–71. https://doi.org/10.4103/ijpcdr.ijpcdr_16_22
- Joy, D., Nandha, K., Jaiswal, N., Vasudeva, A., Prabha, S. and Pratap, U. (2017). Antibacterial Effect of *Azadirachta indica* (Neem) or *Curcuma longa* (Turmeric) against *Enterococcus faecalis* Compared with that of 5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine in vitro. *The Bulletin of Tokyo Dental College*, 58(2), 103–109. <https://doi.org/10.2209/tdcpublish.2015-0029>
- Lakshmi, T., Krishnan, V., Rajendran, R. and Madhusudhanan, N. (2015). *Azadirachta indica*: An herbal panacea in dentistry - An update. *Pharmacognosy Reviews*, 9(17), 41–44. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.156337>
- Marne, Y. and Vidyapeeth, B. (2019). Comparative Analysis of Ozonated Oil and Neem Extract as a Root Canal Irrigant-An In-Vitro Study. *International Journal of Dental Science and Innovative Research*, 2(4), 335 – 343.
- Martínez, A., Ortega, J. L., Hernández, S. I., Olivas, E. H. and Alba, J. J. (2016). Application of Neem tree in agriculture, industry, medicine, and environment: A review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 13(2), 191–198. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v13i2.23>

- Mistry, K., Sanghvi, Z., Parmar, G. and Shah, S. (2014). The antimicrobial activity of *Azadirachta indica*, *Mimusops elengi*, *Tinospora cardifolia*, *Ocimum sanctum* and 2% chlorhexidine gluconate on common endodontic pathogens: An in vitro study. *European Journal of Dentistry*, 8(2), 172–177. DOI: 10.4103/1305-7456.130591.
- Montealegre, J. M., Zeledón, R., Benavides, M. and Gallardo, C. (2014). Propiedades fisicoquímicas y disolución de tejido pulpar del hipoclorito de sodio utilizado como irrigante endodóntico en tres centros de atención odontológica dela Caja Costarricense del Seguro Social. *Revista Científica Odontológica*, 10(1), 43–51. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=324233026006>
- Naveed, N., and Murthykumar, K. (2014). The use of neem in oral health. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 7 (9), 1060-1064.
- Nunes, K. S., Feron, L., Montagner, F. and de Melo, T. A. F. (2016). Analysis of root canal organic tissue dissolution capacity according to the type of irrigation solution and agitation technique. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 15(1), 70–74. <https://doi.org/10.20396/bjos.v15i1.8647128>
- Pashley, E. L., Birdsong, N. L., Bowman, K. and Pashley, D. H. (1985). Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *Journal of Endodontics*, 11(12), 525–528. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(85\)80197-7](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(85)80197-7)
- Pravin, P. and Raut, A. (2021). A proposed classification system for herbal endodontic irrigants. *Journal of Conservative Dentistry*, 24(3), 293–295. https://doi.org/10.4103/jcd.jcd_75_21
- Ranjitha, G., Rajesh, S., Kumari, A., Vikram, R., Kumar, N. and Shivekshith, A. (2020). Comparative evaluation of smear layer removal efficacy of three herbal irrigants in the apical third of the root canal: An in vitro scanning electron microscopic study. *Journal of Research in Dental Science*, 11, 61–65. DOI: 10.4103/srmjrd.srmjrd_2_20
- Rao, S. Anitha; Sunitha, Lakkireddy; Rao, B. Nageshwar¹; Naik, J. Praveena; Shekar, V. Chandra. (2017). Efficacy of *allium sativum* extract and sodium hypochlorite on dental pulp dissolution: An in vitro study. *Saudi Endodontic Journal*. 7(1):36-39. | DOI: 10.4103/1658-5984.197986
- Ravishankar, T., Kaur, R., Kaur, S. and Bhattacharyya, S. (2018). Neem (*Azadirachta indica*): An Elixir in Dentistry. *Chronicles of Dental Research*, 7(1), 7–17. Recuperado de www.cdronline.org
- Reshma RV., Varma, R., Sureshkumar, J., Kumaran, P., Xavier, A. and Madhavan, M. (2020). Comparison of cytotoxicity and smear layer removal efficacy of triphala (an Indian ayurvedic herbal formulation) and 5.25% sodium hypochlorite as root canal irrigants: An in vitro study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 38(4), 343–349. https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_297_20
- Saxena, D., Saha, S. G., Saha, M. K., Dubey, S. and Khatri, M. (2015). An in vitro evaluation of antimicrobial activity of five herbal extracts and comparison of their activity with 2.5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*. *Indian Journal of Dental Research*, 26(5), 524–527. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.172080>
- Silva, L. H., Gomes, N., Silva, L., Neutzing, A., Giadino, L., Souza, E. and Pappen, F. (2013). Pulp tissue dissolution capacity of sodium hypochlorite combined with cetrimide and polypropylene glycol. *Brazilian Dental Journal*, 24(5), 477–481. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201302041>
- Só, M. V. R., Vier-Pelisser, F. V., Darcie, M. S., Smaniotto, D. G. R., Montagner, F., & Kuga, M. C. (2011). Pulp tissue dissolution when the use of sodium hypochlorite and EDTA

- alone or associated. *Revista de Odontología y Ciencia*, 26(2), 156-160. Recuperado de <https://www.scielo.br/j/roc/a/WvpSqhBFnkNGHJpYBJY9RXq/?format=pdf&lang=en>
- Srinivasan, S., Kumarappan, S. K., Ramachandran, A., Honap, M. N., Kadandale, S., & Rayar, S. (2020). Comparative evaluation of pulp tissue dissolution ability of sodium hypochlorite by various activation techniques: An *in vitro* study. *Journal of conservative dentistry*, 23(3), 304–308. https://doi.org/10.4103/JCD.JCD_425_20
- Sundaram, D., Narayanan, R. K. and Vadakkepurayil, K. (2016). A comparative evaluation on antimicrobial effect of honey, neem leaf extract and sodium hypochlorite as intracanal irrigant: An ex-vivo study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(8), ZC88–ZC91. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/19268.8311>
- Tartari, T., Bachmann, L., Maliza, A. G., Andrade, F. B., Duarte, M. A., & Bramante, C. M. (2016). Tissue dissolution and modifications in dentin composition by different sodium hypochlorite concentrations. *Journal of Applied Oral Science*, 24(3), 291–298. <https://doi.org/10.1590/1678-775720150524>
- Teja, K. V., Janani, K., Srivastava, K. C., Shrivastava, D., Jose, J., Marya, A., & Karobari, M. I. (2021). Comparison of Herbal Agents with Sodium Hypochlorite as Root Canal Irrigant: A Systematic Review of *In Vitro* Studies. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2021, 8967219. <https://doi.org/10.1155/2021/8967219>
- Tyagi, S., Sinha, D., Garg, P., Singh, U., Mishra, C. and Nagpal, R. (2013). Comparison of antimicrobial efficacy of propolis, *Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica* (Neem) and 5% sodium hypochlorite on *Candida albicans* biofilm formed on tooth substrate: An in-vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*, 16(6), 532–535. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.120973>
- Wahjuningrum, D., Elizabeth, M. K., Puteri, F., Mardiyah, A. and Subiyanto, A. (2019). Cytotoxicity assay of sodium hypochlorite and QMix on cultured human periodontal ligament fibroblast cells. *Journal of International Oral Health*, 11(4), 204. https://doi.org/10.4103/jioh.jioh_48_19