Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Estomatología

TESINA

Ácido maleico como protocolo de irrigación final en Endodoncia

PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON OPCIÓN TERMINAL EN ENDODONCIA

PRESENTA:

C.D. Narváez Ramos Daniel Oswaldo

219450003

DIRECTOR DE TESIS:

D.C. Jerezano Domínguez Alberto V.

NSS524063

DIRECTOR DISCIPLINARIO:

E.E Martínez Guerrero Alejandro G.

100526940

DIRECTOR METODOLÓGICO:

D.C. Castillo Silva Brenda Eréndida

NSS526469

ASESOR EXTERNO:

D.C. Cerda Cristerna Bernardino Isaac

Universidad Veracruzana

LECTOR:

M.C.O. Francisco Javier Castillo Cano

100445599

BUAP

Oficio No. FESIEP/074/2021

C. Daniel Oswaldo Narváez RamosMatrícula: 219450003
Alumno de la Maestría en EstomatologíaCon opción Terminal en Endodoncia
De la Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de PueblaP R E S E N T E.

El que suscribe, ***MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez****, Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por este medio me permito informar a usted que esta Secretaría* ***aprueba la impresión de la Tesina titulada "Ácido maleico como protocolo de irrigación final en Endodoncia"****, misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener el grado de* ***Maestro enEstomatología con Opción Terminal en Endodoncia.***

Sin más por el momento, deseándole lo mejor, le reitero mi distinguida consideración.

A t e n t a m e n t e
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a 27 de mayo de 2021.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez
Secretario de Investigación y Estudios de PosgradoFacultad de Estomatología

Facultad de Estomatología
31 Poniente 1304, Col. Volcanes, Puebla, Pue. C. P. 72410
01 (222) 229 55 00 Ext. 6400

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESINA RECEPCIONAL

Para obtener el Grado de: **Maestro(a) en Estomatología con opción terminal en Endodoncia**
Registro CIFE: 053/2021 Fecha: 27/05/2021

Título de la Tesis**: Ácido maleico como protocolo de irrigación final en Endodoncia.**

Nombre del alumno: **Daniel Oswaldo Narváez Ramos** Matrícula**: 219450003**

Domicilio: **CALLE AHUEHUETE #2301 COL MAGISTERIAL UNIVERSIDAD CHIHUAHUA CHIH 31200**.

Tel: **614 112 7279** Fecha de ingreso a la Facultad**: Enero 2019**

Firma:

Director de tesis: **D.C. Alberto Vinicio Jerezano Domínguez** Grado académico: **Doctor en Ciencias**
Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **NSS524063** Tel: **222 426 9508**

Firma:

Director disciplinario: **C.D.E.E. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero** Grado académico: **Cirujano Dentista Especialista en Endodoncia** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100526940** Tel: **222 358 6344**

Firma:

Director metodológico: **D.C. Brenda Eréndida Castillo Silva** Grado académico: **Doctora en Ciencias Odontológicas** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **NSS526469** Tel: **444 242 6077**

Firma:

Asesor externo: **D.C. Bernardino Isaac Cerda Cristerna** Grado académico: **Doctor en Ciencias**
Adscripción: **Universidad Veracruzana Río Blanco**

Firma:

Lector: **M.C.O. Francisco Javier Castillo Cano** Grado académico: **Maestría en Ciencias Odontológicas Terminal en Endodoncia** Adscripción: **Facultad de Estomatología** ID: **100445599** Tel: **221 117 7221**

Firma:

Nombre y firma de aprobación del Responsable de la Maestría en Estomatología con Opción terminal en Endodoncia

CDEE. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero Firma: _____

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez

Fecha: 27/05/2021

Sello _____

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por llenar siempre mi vida con su bendición y guiarme a lo largo de mi existencia.

A mis padres Luis Carlos Narváez Ramos e Imelda Ramos Barragán quienes con su amor, esfuerzo y apoyo me han permitido llegar a cumplir un sueño más, por ser mi ejemplo a seguir, de nunca rendirme, esforzarme y tratar siempre con respeto a los demás.

A mis hermanos Rodrigo Narváez Ramos, Jacqueline Narváez Ramos y Luis Carlos Narváez Ramos, por su cariño y apoyo incondicional durante esta etapa de mi vida. A toda mi familia que de una u otra forma me acompañan en todos mis logros. A todos mis amigos y colegas por toda su ayuda y buena voluntad.

Quiero expresar mi gratitud a cada uno de mis docentes de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por haberme dado la oportunidad más valiosa que he tenido en la vida de estudiar en la máxima casa de estudios y poder poner en alto con orgullo a la universidad y al posgrado, por brindarme su tiempo e impartirme sus conocimientos para que pudiera aprender y crecer día a día.

Agradezco inmensamente al Dr. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero, por todas las atenciones e información brindada, por confiar en mí, por todas las oportunidades brindadas, sus consejos y su conocimiento. A la Dra. Brenda Eréndida Castillo Silva, por haberme guiado, no solo en la elaboración de este trabajo, sino a lo largo de todo el posgrado, por brindarme su tiempo para que pudiera aprender mejor, por su paciencia y por haberme orientado en todos los momentos que necesité sus consejos. Al Dr. Alberto Jerezano Domínguez, por su tiempo y conocimiento para llevar a cabo esta investigación, gracias por sus enseñanzas, gran apoyo y formar parte de otro objetivo alcanzado.

Muchas gracias a cada uno de ustedes por su dedicación, entrega, paciencia, enseñanza y amistad.

Índice

Resumen 1
Capítulo I. Marco Contextual. 2
Capitulo II. Marco teórico conceptual 3
Capítulo III. Marco Referencial 10
Capítulo IV. Metodología y Análisis 13
Capítulo V. Discusión y Conclusión 15
Bibliografía 19

Resumen

El propósito de esta revisión fue comparar la capacidad de las soluciones irrigantes EDTA, ácido cítrico y ácido maleico a diferentes concentraciones dentro del sistema de conductos radiculares, con la finalidad de que el ácido maleico pueda considerarse como una alternativa de irrigación final dentro de la práctica endodóntica. Esta revisión se realizó en enero del 2019 a diciembre del 2020. Se realizó una estrategia de búsqueda en bases de datos como PUBMED, ScienceDirect y Wiley. De los 11 artículos incluidos en esta revisión, 5 evaluaron la limpieza del lodillo dentinario. De manera *ex vivo* mostraron que el ácido maleico al 7% como irrigación final es más eficaz en la eliminación del lodillo dentinario en tercio apical del sistema de conductos radiculares, en comparación con el EDTA al 17%. La irrigación final con ácido maleico al 7% durante 45 segundos induce la mayor limpieza del lodillo dentinario en todo el conducto radicular sin causar daños a la dentina, en comparación con el EDTA al 17%. La solución de ácido maleico al 7%, puede considerarse como un agente quelante de primera opción dentro de la práctica endodóntica debido a los resultados observados en esta revisión.

Capítulo I. Marco Contextual.

Actualmente ninguna técnica de instrumentación endodóntica puede garantizar que los conductos se encuentren libres de bacterias, por lo tanto, es necesario la irrigación dentro de los conductos para reducir la carga bacteriana.

Se ha determinado que las paredes de los conductos, especialmente en el tercio apical, no pueden ser limpiados de manera efectiva con instrumentación mecánica, debido a que permiten que sobrevivan microorganismos localizados en áreas de difícil acceso. Estas variaciones anatómicas pueden albergar bacterias y otros microorganismos residuales que también tienen la posibilidad de ser localizados en los túbulos dentinarios.

Es de suma importancia el uso de irrigantes para erradicar los microorganismos, por lo que a lo largo del tiempo se han propuesto diversas sustancias químicas para lograr ese fin. El irrigante (o la combinación de irrigantes) ideal deberá de erradicar las bacterias, disolver tejido necrótico, lubricar el conducto para facilitar la instrumentación mecánica, eliminar la capa de lodillo dentinario y no debe de irritar los tejidos sanos.

En la irrigación final es importante conseguir una adecuada limpieza del lodillo dentinario debido a que esta capa residual puede obliterar los túbulos dentinarios, esto ocasiona una menor desinfección por parte de los irrigantes y de la medicación intraconducto. Debido a esto, el agente sellador no puede penetrar dentro de los túbulos para un mejor sellado. Los agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), el ácido cítrico y el ácido maleico tienen la capacidad de remover el lodillo dentinario, sin embargo, pueden llegar a ocasionar la erosión de la dentina radicular y aumentar el diámetro de los túbulos dentinarios, debilitando las paredes del conducto radicular. Esto puede llevar a un posible fracaso endodóntico.

El ácido maleico con su alta capacidad quelante puede ser una buena alternativa para lograr el éxito del tratamiento endodóntico.

El propósito de esta revisión es comparar la capacidad de las soluciones irrigantes EDTA, ácido cítrico y ácido maleico a diferentes concentraciones dentro del sistema de conductos radiculares, con la finalidad de que el ácido maleico pueda considerarse como una alternativa de irrigación final dentro de la práctica endodóntica.

Capitulo II. Marco teórico conceptual

Los conductos radiculares de los dientes humanos son sistemas intrínsecamente complejos con una variedad de estructuras irregulares. La complejidad anatómica del sistema radicular permite que las bacterias se oculten y se multipliquen, los desechos a menudo permanecen en áreas específicas del conducto. El tratamiento endodóntico convencional incluye la instrumentación de los conductos en la mayoría de los casos a un tamaño mínimo de diámetro 0.25 mm o 0.30 mm y, en ocasiones, más grande que estos debido a 2 razones principales: para optimizar la irrigación, especialmente en tercio apical; y para una obturación de alta calidad (1).

La irrigación es una parte esencial del tratamiento del conducto radicular porque se encarga de la eliminación de tejido pulpar, microbiota y sus derivados, y la eliminación de desechos orgánicos e inorgánicos. La irrigación se realiza principalmente con una jeringa y una aguja, pero este método simple no puede limpiar áreas remotas del sistema de conductos radiculares (2, 3).

La eliminación de los restos orgánicos e inorgánicos, los microorganismos y las toxinas microbianas es esencial para el éxito endodóntico. Aunque esto podría lograrse a través del desbridamiento quimiomecánico, es imposible conformar y limpiar el sistema de conductos radiculares por completo debido a la naturaleza intrínseca de su anatomía. Incluso con el uso de instrumentos rotatorios o reciprocantes, los instrumentos de níquel titanio disponibles actualmente solo actúan en el cuerpo central del conducto. Las aletas y el istmo quedan intactos después de completar la preparación. Estas áreas pueden albergar desechos de tejidos, microorganismos y sus derivados, lo que podría evitar el sellado del material de obturación y dar como resultado una inflamación perirradicular persistente. Por lo tanto, la irrigación es una parte esencial del desbridamiento del conducto radicular porque permite una limpieza más allá de lo que podría lograrse mediante la instrumentación del conducto.

Los irrigantes ideales del conducto radicular deben cumplir con todas las condiciones descritas anteriormente para el éxito endodóntico. Por lo tanto, en la práctica endodóntica contemporánea, los irrigantes duales como el hipoclorito de sodio (NaOCl) con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o clorhexidina (CHX) se usan a menudo como irrigantes iniciales y finales para complementar las deficiencias asociadas con el uso de un solo irrigante. Lo que es más importante, estos irrigantes deben ponerse en contacto directo con todas las superficies de la pared del conducto para una acción efectiva, en particular para las porciones apicales de los conductos radiculares estrechos (4).

Los agentes quelantes como el ácido cítrico y el ácido maleico tienen la capacidad de erosionar la dentina radicular debilitando de esta manera las paredes, su concentración, su pH y el tiempo dentro del conducto radicular serán factores importantes para evitar esta erosión.

Cuando no se puede lograr una limpieza adecuada, el sellado con los tejidos periapicales es más difícil, y la persistencia de bacterias en el sistema del conducto radicular puede eventualmente causar el fracaso del tratamiento endodóntico (1).

Sistema de irrigantes

Según Wayman en 1979, las características ideales de un irrigante deberán ser (5):

- No irritar a los tejidos periapicales.
- Ser una solución estable.
- Ser germicida y fungicida.
- Tener un efecto antimicrobiano prolongado.
- Mantenerse activo en presencia de sangre.
- Contar con una tensión superficial baja.
- No interferir en la reparación de los tejidos.
- No teñir o pigmentar la estructura dental.
- No inducir a la respuesta inmune celular.
- Eliminar lodillo dentinario y desinfectar los túbulos dentinarios.
- No ser antigénico, tóxico, o carcinogénico.
- No producir efectos adversos en las propiedades de la dentina expuesta o en la capacidad de sellado de los materiales de obturación.
- Ser de aplicación práctica.
- Ser relativamente económico.

Los irrigantes se pueden dividir en soluciones: desinfectantes, quelantes, medicamentos, lubricantes, y blanqueadoras; cada una de ellas con propiedades y comportamientos diferentes (6).

Hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio (NaOCl), un compuesto halogenado, se utiliza habitualmente durante el tratamiento endodóntico por su acción antimicrobiana de amplio espectro que ha demostrado ser eficaz contra bacterias, bacteriófagos, esporas, levaduras y virus.

El efecto germicida del hipoclorito de sodio ha sido bien establecido, y también se ha demostrado su capacidad para disolver tejidos orgánicos y desechos celulares en el conducto radicular (7).

Cuando se usan solos, los disolventes de tejidos orgánicos como el NaOCl han sido ineficaces para eliminar el lodillo dentinario.

El hipoclorito de sodio tiene un pH alrededor de 12, entre los valores de pH 4 y 7, el ion cloro existe como ácido hipocloroso (HClO) mientras que, a un pH superior a 9, predomina el ion hipoclorito (OCl). El HClO tiene una fuerte acción antibacteriana en comparación con el OCl debido a su capacidad para interrumpir la fosforilación

oxidativa y otras actividades asociadas a la membrana (8). El HClO también ejerce un rápido efecto inhibidor sobre la función mitocondrial y la síntesis de ADN de las bacterias (9). Además de su acción antibacteriana, el hipoclorito de sodio tiene la capacidad de disolver los restos pulpares y el componente orgánico de la dentina (10, 11). También tiene la capacidad de neutralizar parcialmente los tejidos necróticos o cualquier componente antigénico o microbiano dejado en el espacio del conducto radicular (12).

Ácido maleico

El ácido maleico (AM) (Ilustración 1) es un ácido orgánico débil utilizado como acondicionador ácido en odontología adhesiva. Posee mayor capacidad de eliminación del lodillo dentinario que el EDTA de las paredes instrumentadas del conducto radicular. En odontología operatoria, se ha informado que el AM no es tóxico para la pulpa cuando se usa como agente de grabado (13).

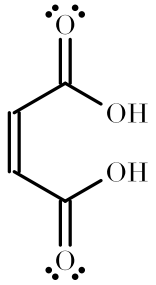


Ilustración 1. Estructura química del Ácido Maleico.

La concentración máxima de ácido maleico utilizada en endodoncia es de 7% porque Prabhu y col. mencionan que las concentraciones más altas pueden causar daño a la dentina intertubular (6) al disolver mayor tejido inorgánico de la dentina, esto debilita las paredes del conducto. A esta concentración su pH es de aproximadamente 3.

El AM permite una mayor eliminación de lodillo dentinario al captar los iones calcio disueltos en la solución y con menos efectos tóxicos que el EDTA (13) por lo que puede utilizarse como irrigación final. Cuando se enjuaga durante 1 minuto se logra observar una erosión evidente en la dentina del tercio coronal. Después de 3 min de exposición, se observa una erosión dentinaria severa en toda la pared del conducto radicular.

La actividad antimicrobiana del ácido maleico puede provenir de su naturaleza química como un ácido orgánico. Los ácidos orgánicos disminuyen el pH interno de las células microbianas a través de la ionización de moléculas de ácido disociadas y la interrupción del transporte del sustrato al alterar la permeabilidad de la membrana celular (14). Su actividad antibacteriana se ha demostrado contra *Enterococcus faecalis* (15).

La adición de quelantes al NaOCl reduce su pH en una proporción y de manera dependiente del tiempo (16). Esto afecta las formas de cloro libre en la solución y

provoca un aumento de ácido hipocloroso y cloro gaseoso, lo que posteriormente reduce la cantidad de ion hipoclorito (17).

Al combinar una solución de clorhexidina (CHX) al 2% y AM al 7%, no se observa formación de precipitado. Sin embargo, cuando se mezcla CHX al 20% con MA al 7%, se forma un precipitado (18).

Ácido cítrico

Goldmann y col., en 1988, utilizan el ácido cítrico (Illustración 2) como irrigante ya que reacciona con los metales, formando un quelato soluble aniónico. Informaron que en la remoción del lodillo dentinario era similar al EDTA (19). Ando informó que la citotoxicidad del ácido cítrico es menor para los tejidos que el EDTA (20).

Debido a que los agentes quelantes como los ácidos láctico y cítrico ocurren naturalmente en el cuerpo, se piensa que estas soluciones son más aceptables biológicamente que muchos irrigantes que se usan comúnmente. El ácido cítrico (AC) se encuentra en las mitocondrias y es utilizado por los bancos de sangre para prevenir la coagulación. El ácido cítrico también es esencial para el metabolismo humano y se encuentra en muchos alimentos.

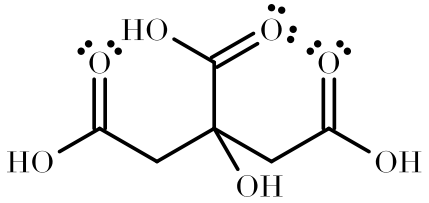


Ilustración 2. Estructura química del Ácido cítrico.

También se ha demostrado que el ácido cítrico es el ácido más eficaz para alterar la solubilidad de la hidroxiapatita. Su pH aproximadamente es de 1. Wayman y col., encontraron que el ácido cítrico en concentraciones de 10, 25 y 50% limpia las paredes del conducto y deja abiertos los túbulos dentinarios (7). Se recomienda al 10% de ácido cítrico para garantizar que las paredes del conducto estén limpias y que los túbulos dentinarios estén patentes (7). Se ha detectado erosión de dentina peritubular e intertubular cuando se utiliza al 10% como irrigante inicial (incluso durante solo 1 minuto) seguido de NaOCl al 5,25%. Extender el tiempo del agente desmineralizante o del hipoclorito aumenta la severidad de la erosión de la dentina (21)

Register y Burdick estudiaron los efectos de la desmineralización de la raíz con diferentes ácidos y encontraron que el ácido cítrico causaba menos coagulación de la sangre y daño a los tejidos blandos en comparación con otros ácidos. Además, permite la rehabilitación de la circulación en colgajos gingivales en el momento más temprano posible del postoperatorio. Los efectos biológicos del ácido cítrico en la estructura

periodontal han sido ampliamente estudiados en periodoncia. Neuman y Newman demostraron que el ácido cítrico es el ácido más efectivo para alterar la solubilidad de la hidroxiapatita (5).

La combinación de NaOCl y ácido cítrico provoca una disminución en la cantidad de cloro disponible. AC y CHX aparentemente no presentan reacciones antagónicas (22).

Un estudio encontró que el AC es ineficaz contra el biofilm de *E. faecalis (23)*. Daly mostró que las superficies radiculares tratadas con AC *in vitro* presentaron una reducción significativa de bacterias cultivables. Sus hallazgos indican que el ácido cítrico ejerce una actividad antibacteriana contra los depósitos de placa microbiana (24). *Bacillus subtilis* demostró ser el organismo más susceptible a los efectos bactericidas del ácido cítrico (5).

EDTA

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (Ilustración 3) es un agente quelante que se utiliza con frecuencia en endodoncia. Se utiliza para aumentar la eficacia de la preparación biomecánica y para asegurar la eliminación del lodillo dentinario (25). Incluye cuatro grupos acetilo diferentes unidos a la etilendiamina. Con iones alcalinotérreos y metales pesados, forma quelatos metálicos que son bastante estables. En odontología, Nygaard-Østby lo utilizó por primera vez en 1957 para la preparación de conductos radiculares estrechos y calcificados (26). Está disponible en forma líquida y en gel en concentraciones de 15% y 17%. Actualmente, el EDTA se produce a partir de etilendiamina (1,2-diaminoetano), formaldehído (metanal) y cianuro de sodio (26). Además, EDTA tiene diferentes usos. Las sales de EDTA se usan comúnmente en productos personales, medicamentos tópicos y soluciones oftálmicas y óticas. Sin embargo, puede provocar reacciones alérgicas, como dermatitis de contacto (27). Las sales de EDTA son anticoagulantes y se utilizan ampliamente en el diagnóstico de laboratorio. También permite la conservación de los componentes celulares y la morfología de las células sanguíneas (28).

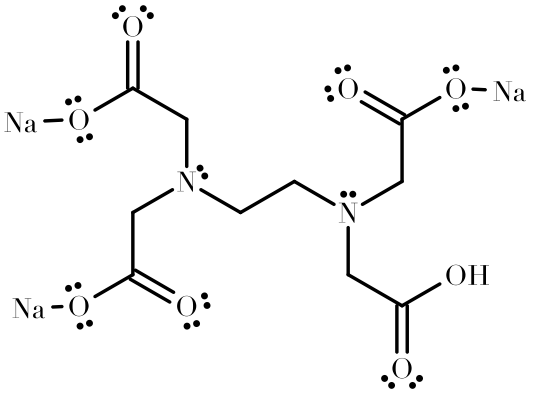


Ilustración 3. Estructura química del EDTAHNa[3]

El EDTA se utiliza después del NaOCl como irrigante final en tratamientos de endodoncia. La solución de EDTA tiene un pH neutro o ligeramente alcalino, aproximadamente de 8; a un pH ácido precipita EDTA. Se usa generalmente como una solución al 17% o al 15%, aunque algunos estudios han sugerido que la solución de EDTA al 5% e incluso al 1% es lo suficientemente fuerte para eliminar el lodillo dentinario (29). El EDTA solo afecta la parte inorgánica de la dentina (hidroxiapatita) y del lodillo dentinario (30, 31).

El EDTA tiene la propiedad de quelar con los iones Ca^{+2} y otros cationes divalentes, desmineraliza la dentina y elimina los componentes inorgánicos del lodillo dentinario (32). El uso de EDTA en combinación con NaOCl también puede aumentar la eliminación de Ca^{+2} de la dentina radicular (33), provocando una disolución progresiva de la dentina a expensas de la erosión en las regiones peritubular e intertubular (34). EDTA puede eliminar el lodillo dentinario en tan solo 1 minuto sin causar daño en la dentina radicular. Los tiempos de aplicación prolongados de EDTA también podrían aumentar la eliminación de Ca^{+2} de la dentina radicular (33), lo que lleva a la aparición de erosión tubular (35).

Cuando se agrega EDTA al NaOCl, se puede detectar gas cloro a niveles relativamente bajos (36). Con respecto al EDTA asociado con CHX, potencialmente puede degradar CHX, formando una sal (37).

Patterson informó que el 10% y el 3%, respectivamente, de las soluciones de EDTA mostraron acción antimicrobiana contra *Streptococcus* y *Staphylococcus* (38).

Ya se ha informado que la citotoxicidad del ácido cítrico y del EDTA son proporcionales a su concentración. Patterson informó un daño tisular mínimo después de la exposición a EDTA al 0,03%; sin embargo, la inflamación aumentó a medida que aumentaba la concentración de EDTA (38). La filtración de EDTA a los tejidos periapicales durante la preparación del conducto radicular puede inhibir la función de los macrófagos y reducir la reacción inflamatoria periapical (39). Varios autores han demostrado que una concentración de 17% o 15% de sal de EDTA era tóxica *in vitro* (40), mientras que concentraciones menores presentan una toxicidad reducida.

Lodillo dentinario

Aunque la instrumentación mecánica reduce el número de microorganismos, genera una capa de residuos orgánicos e inorgánicos en las paredes del conducto radicular conocida como lodillo dentinario, y también puede haber una acumulación de restos de tejido duro en áreas no instrumentadas (41). El lodillo dentinario actúa como una barrera física que disminuye la difusión de las soluciones de irrigación y los medicamentos del conducto radicular dentro de la estructura de la dentina (42-44). Además, las bacterias quedan dentro de los túbulos atrapadas por el lodillo dentinario (45), esto evita a veces la acción antimicrobiana de los productos químicos utilizados (42).

Permeabilidad

La permeabilidad es la capacidad que tiene un cuerpo de permitirle a un líquido que pase a través de él sin alterar su estructura. La raíz se va a dividir en tres tercios, cada tercio contiene cierta cantidad de túbulos dentinarios y a la vez estos tienen diferentes diámetros. En tercio cervical el diámetro promedio natural es de 2.280 µm, en tercio medio es de 1.866 µm y en tercio apical es de 1.552 µm (46). Para mejores resultados clínicos es importante que los túbulos se mantengan permeables con sus respectivos diámetros promedios naturales. Es bien sabido que el componente mineral en los tejidos conectivos duros contribuye a la resistencia y al módulo elástico, mientras que el colágeno es responsable de la dureza (25, 47-50). En la irrigación final los agentes quelantes eliminan el componente inorgánico del lodillo dentinario que se genera durante la instrumentación, pero también actúa sobre la pared dentinaria disolviendo los cristales de hidroxiapatita y dejando expuesto el colágeno. Al irrigar posteriormente con hipoclorito de sodio, actuaría en forma directa sobre el colágeno, produciendo un desgaste desmedido de la superficie, con la consecuente apertura excesiva del diámetro de los túbulos y la comunicación entre ellos al desaparecer la dentina intertubular (47, 51). Los cristales de hidroxiapatita se encargan de proteger las fibrillas de colágeno, el hipoclorito de sodio como irrigación inicial produce su desnaturalización en forma lenta. Sin embargo, cuando se utilizan quelantes, el colágeno queda expuesto, sin la protección de los cristales, siendo rápidamente atacado por éste (49, 52, 53). La erosión observada por el uso de algunos irrigantes podría ser un factor contribuyente en la fractura vertical de la raíz, dependiendo de la profundidad de la erosión, el grosor de la raíz y la cantidad de dentina esclerótica en la raíz. Por otro lado, la erosión también puede ayudar a lograr una superficie de la pared del conducto radicular máximamente limpia, libre de escombros y bacterias (54).

Microscopía electrónica de barrido

La microscopía es una técnica utilizada para visualizar estructuras que no se pueden observar a simple vista. Su propósito principal es formar una imagen del área que se desea observar. Las técnicas de microscopía permiten la visualización de estructuras presentes dentro de la muestra o en su superficie, y estas dependen de la técnica utilizada y las características de la muestra.

Hasta el primer cuarto del siglo XX, se observaron muestras al utilizar luz visible con los llamados microscopios ópticos, y esta técnica dependía del desarrollo de técnicas de producción de lentes con cualidades ópticas apropiadas para lograr un límite de resolución de la mitad de la longitud de onda más corta de luz visible.

El microscopio electrónico de barrido se utiliza para analizar la superficie de la muestra y para capturar e interpretar algunas señales emitidas durante la interacción del haz de electrones con la muestra. Entre estas señales, hay electrones (electrones de barrena, electrones secundarios y electrones retrodispersados), rayos X (rayos X característicos y radiación de rayos X de Bremsstrahlung), luz (ultravioleta, visible e infrarroja), calor,

electrones conducidos a través de la muestra, y los electrones absorbidos por la muestra. Con algunas de estas señales, es posible observar y caracterizar la muestra en términos de su morfología de superficie, organización estructural y composición química (55).

Los estudios sobre evaluación del lodillo dentinario e irrigación utilizan el microscopio electrónico de barrio para poder evaluar la superficie dentinaria y los túbulos dentinarios, y observar si las paredes se encuentran libres de lodillo dentinario y los túbulos permeables.

Capítulo III. Marco Referencial

El AM como irrigación final ha sido comparado con otras soluciones de irrigantes como el EDTA que es el estándar de oro y el ácido cítrico que se utiliza mayormente como segunda opción.

Loel en 1975, informó que el ácido cítrico es un eficaz irrigante del conducto radicular cuando se usa alternativamente con hipoclorito de sodio (56). Wayman et al. encontraron que el ácido cítrico en concentraciones de 10, 25 y 50% fue capaz de limpiar las paredes del conducto y dejar los túbulos dentinarios abiertos, mientras que una solución de NaOCl al 5,25% mantuvo los túbulos ocluidos cuando se usó como un irrigante en la preparación biomecánica del conducto (7). Baumgartner et al. (1984) encontraron que los regímenes de irrigación que usaban ácido cítrico o una combinación de NaOCl y ácido cítrico eran más efectivos que el NaOCl solo para eliminar el lodillo dentinario (57).

Khedmati y Shohouhinejad en el 2008, evaluaron la eliminación del lodillo dentinario con EDTA al 17% y ácido cítrico al 10%. La cantidad de lodillo dentinario que permaneció en la superficie del conducto radicular o en los túbulos dentinarios visualizado con el microscopio electrónico de barrido se calificó de acuerdo con los siguientes criterios (58): 1 = sin lodillo dentinario: no se detectó lodillo dentinario en la superficie de los conductos radiculares y todos los túbulos estaban limpios y abiertos; 2 = lodillo dentinario moderado: no se observó lodillo dentinario en la superficie del conducto radicular, pero los túbulos contenían restos; y 3 = lodillo dentinario pesado: el lodillo dentinario cubría la superficie del conducto radicular y los túbulos. De acuerdo a los puntajes medios y la comparación estadística del lodillo dentinario entre los tercios coronal, medio y apical de los conductos en cada grupo, encontraron que estas soluciones limpiaron mejor en los tercios medio y cervical que en los tercios apicales (59).

Tidmarsh en 1978, demostró que los conductos irrigados con ácido cítrico permitían la adaptación íntima de una resina de baja viscosidad (60).

Daly en 1982, mostró que las superficies radiculares tratadas con ácido cítrico *in vitro* presentaron una reducción significativa en las bacterias cultivables. Sus hallazgos

indican que el ácido cítrico ejerce una actividad antibacteriana contra los depósitos de placa microbiana (24).

Crigger et al. (1983) comprobaron que el ácido cítrico (pH 1) no tiene ningún efecto perjudicial en el hueso alveolar subyacente o cuando se expone a los tejidos conectivos interdentales (61).

Vasudev Ballal et al. (2009) demostraron que la citotoxicidad del EDTA y el AM depende de las concentraciones utilizadas. La comparación de los valores de IC50 obtenidos de los experimentos del ensayo MTT para EDTA y AM fueron 0.08 y 0.31 M respectivamente, lo que indica claramente el efecto no tóxico de AM sobre el EDTA (13). Ballal et al (2009) informaron que una irrigación final con un 7% de AM es más efectiva que con un 17% de EDTA para eliminar el lodillo dentinario del tercio apical del sistema de conducto radicular (62).

Ferrer-Luque et al. (2010) ponen de manifiesto la capacidad del ácido maleico para erradicar 100% las biopelículas de *E. faecalis* no solo a la concentración recomendada del 7%, sino también a concentraciones más bajas, 0,88% a los 30 segundos de contacto y 0,11% a los 2 minutos (15).

El AM es también un ácido orgánico al igual que el AC, sin embargo, un estudio encontró que el AC es ineficaz contra el biofilm de *E. faecalis*. El menor peso molecular del ácido maleico (134.09 Dalton) en comparación con el ácido cítrico (192.13 Dalton) podría explicar esta diferencia; las moléculas más pequeñas no disociadas de ácido maleico podrían ingresar a las células bacterianas más fácilmente para cambiar el pH interno de los organismos (14).

Autor	Año	Diseño de estudio	Irrigantes evaluados	Objetivo	Resultados
Vasudev Ballal	2015	Ex vivo	° Dióxido de cloro 13,8% ° EDTA 17% ° Ácido maleico (AM) 7% ° NaOCl 2,5% ° Solución salina 0,9%	Evaluación de microdureza y rugosidad de la dentina radicular.	En el tercio medio, el 7% de AM provocó mayor reducción de la microdureza que el 17% de EDTA. El EDTA al 17% provocó menor reducción de la microdureza en comparación con NaOCl al 2,5% en los tercios coronal, medio y apical.
Lin Wang	2016	Ex vivo	° Ácido maleico 7% ° Solución salina 0,9% ° EDTA 17%	Evaluación del efecto del AM sobre la limpieza y propiedades mecánicas.	A los 45 s, AM mostró una eliminación más eficiente de lodillo dentinario en tercio apical que el EDTA. A mayor tiempo de aplicación, disminuyó el lodillo dentinario pero aumentó la erosión.
Fan Fan	2017	Ex vivo	° Solución salina 0,9% ° NaOCl 2,5% ° EDTA 17% ° Ácio maleico 7%	Evaluación del AM tanto en la fuerza de unión del poste de fibra como en la eliminación del lodillo dentinario.	La irrigación con AM presentó mayor eficacia que EDTA en la eliminación de lodillo apical en el tercio apical, y contribuyó a que los postes de fibra tuvieran mayor fuerza de unión
Nidambur Vasudev Ballal	2017	Ex vivo	° EDTA 17% °Ácido maleico 7% °Ácido peracético (AP) 2,25% ° Qmix ° Solución salina 0,9%	Comparar la fuerza de adherencia de los cementos a base de silicato cálcico al usar diferentes quelantes.	En el grupo MTA, no hubo diferencia significativa entre los irrigantes. En el grupo Biodentine, la solución salina demostró una fuerza de unión significativamente mayor. El uso de QMix y AM al 7% dio como resultado una fuerza de unión menor en comparación con el 17% de EDTA.
Nidambur Vasudev Ballal	2017	In vitro	° QMix ° Ácido maleico 7% ° EDTA 17% ° Agua destilada	Comparar el efecto de QMix, AM al 7% y EDTA al 17% sobre la microdureza, la resistencia a la flexión y la microestructura del MTA.	Microdureza: AM presentó menor microdureza que agua destilada, QMix y EDTA. Resistencia a la flexión: Agua destilada fue significativamente mayor que EDTA, QMix y AM, respectivamente. Microestructura: Agua destilada, cristales en forma de aguja. EDTA y AM, materiales amorfos entre los cristales expuestos. QMix, la superficie de MTA tenía más cristales en forma de cubo.
Zahed Mohammadi	2017	Artículo de revisión	° Ácido maleico 7% ° EDTA 17% ° Ácido etidrónico	Analizar los resultados obtenidos de otros estudios.	7% de AM presentó mayor efectividad en la eliminación de lodillo dentinario apical en comparación con 17% EDTA y 18% de ácido Etidrónico (Kurubilla). No hubo diferencia significativa entre EDTA 17% y AM al 7% en la reducción de microdureza. La rugosidad fue mayor con AM (Ballal)
Vasudev Ballal	2018	In vitro	° Agua destilada ° EDTA 17% ° Ácido fosfórico (AF) 37% ° Ácido maleico 7%	Evaluar el efecto de irrigantes en Biodentine con respecto a la topografía de la superficie, la microdureza y la fuerza de adherencia por expulsión.	Microdureza: resultados similares entre EDTA y AM. Estructura: AM mostró porosidad. Fuerza de adhesión: no fue alterada por EDTA ni por AM.
Sanjay Jaiswal	2018	Ex vivo	° EDTA 17% ° Ácido maleico 7% ° Ácido fumárico 0,7% ° Solución salina 0,9%	Evaluar la eliminación del lodillo dentinario de las paredes del conducto radicular.	En el tercio apical, cantidad moderada de lodillo dentinario con túbulos dentinarios parcialmente bloqueados con ácido fumárico y ácido maleico. EDTA mostró una capa gruesa de lodillo dentinario con muy pocos túbulos dentinarios abiertos.
Hakan Gokturk	2019	Ex vivo	° EDTA 17% ° Ácido maleico 7% ° Ácido peracético 2,25% ° Ácido cítrico 10% ° Agua destilada	Evaluar el grado de formación de grietas durante la preparación del conducto utilizando limas recíprocas.	El grupo NaOCl presentó el mayor número de secciones con grietas pero no hubo diferencias significativas con el agua destilada. Luego el que presentó mayor grietas fue el ácido peracético, el AM, el EDTA en gel, el ácido cítrico y por último, EDTA en líquido.
Nidambur Vasudev Ballal	2019	Ex vivo	° NaOCl 2,5% ° EDTA 17% ° HEDP 9% ° Ácido maleico 7% ° Agua destilada	Evaluar la eficacia de diferentes protocolos de irrigación para eliminar dos selladores a base de silicato tricálcico.	Eliminación con ultrasonido: de los surcos, EDTA eliminó una menor cantidad de MTA Fillapex y AM eliminó mayor cantidad de BioRoot RCS. De las paredes del conducto radicular, el AM eliminó la mayor cantidad de BioRoot RCS. Eliminación con láser Er: YAG: de los sucos, AM eliminó el MTA Fillapex mejor que EDTA. De las paredes del conducto radicular, la menor cantidad de sellador residual fue con AM.
Giardino	2020	Ex vivo	° Solución salina 0,9% ° NaOCl 2,5% ° EDTA 17% ° Ácio maleico 7% ° Cetrimida (CTR) 0,5%	Evaluar la eficacia antimicrobiana, la toxicidad y la limpieza del EDTA y AM solos y combinados con cetrimida (CTR).	El 7% de AM tiene menor citotóxicidad en comparación con el 17% de EDTA. El EDTA retuvo un efecto inhibidor y bactericida débil contra las células planctónicas. El porcentaje de células muertas aumentó significativamente cuando se añadió CTR. El AM mostró una menor actividad bactericida en las células de la biopelícula.

Tabla 1. Resumen de los estudios seleccionados para esta investigación

Capítulo IV. Metodología y Análisis

Esta revisión sistemática sobre irrigantes que se utilizan actualmente en endodoncia, así como nuevas soluciones para la eliminación del lodillo dentinario dentro del sistema de conductos radiculares se realizó en enero del 2019 a diciembre del 2020.

Se realizó una estrategia de búsqueda en bases de datos como PUBMED, ScienceDirect y Wiley. La búsqueda se realizó de manera manual a partir de palabras clave.

Las palabras clave que se usaron en estas bases de datos fueron: irrigation solution, maleic acid y dentinal tubules. Las palabras clave libres se combinaron con los operadores booleanos "OR" y "AND" para restringir la búsqueda.

Después de elegir la base de datos, un revisor eliminó los duplicados y seleccionó los probables artículos adecuados según el título y los resúmenes. Posterior a esto se realizó una lectura del texto completo de los artículos para identificar estudios relevantes.

Criterios de inclusión

Sólo se incluyeron artículos que comparan el ácido maleico, EDTA y ácido cítrico como agentes irrigantes durante el tratamiento del conducto radicular. Otros criterios de inclusión fueron los estudios publicados en inglés o español.

Criterios de exclusión

Se excluyeron los estudios que no presentan el idioma inglés o español, sin texto completo y aquellos que no fueron relevantes para el estudio.

Resultados

Selección de estudios

Una vez realizado el cribado de la base de datos y la eliminación de duplicados, se identificaron 185 estudios. Después de examinar los títulos, se seleccionaron 23 estudios. Posteriormente, al leer los resúmenes, quedaron 12 estudios, y este número se redujo a 11 después de leer cuidadosamente los artículos de texto completo (Imagen 1). En todos los estudios analizados comparaban el EDTA y el ácido maleico, en la mayoría utilizaban otras soluciones de irrigación que eran comparados con el EDTA y el ácido maleico para aportar mayor información (tabla 1).

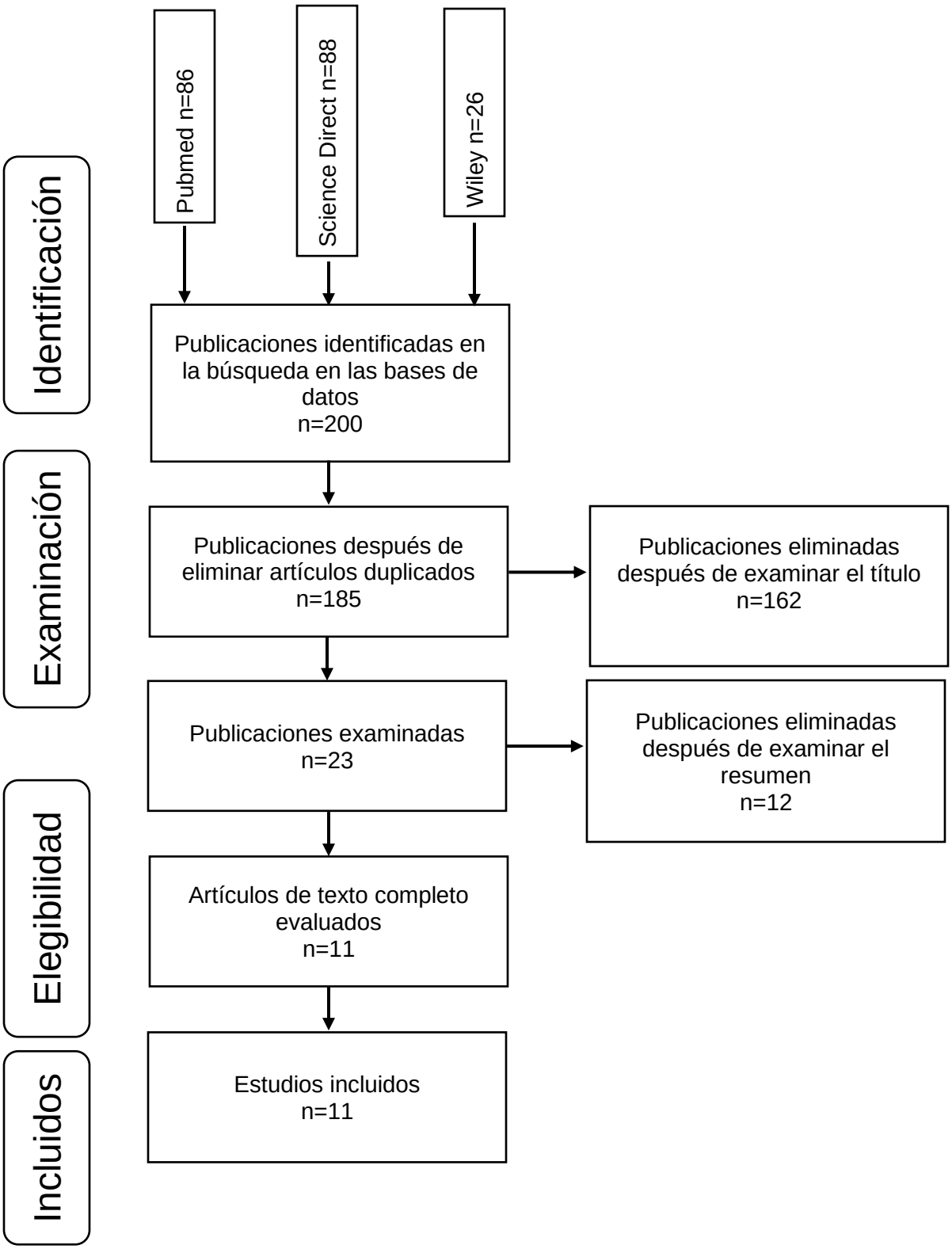


Imagen 1. Diagrama de flujo que presenta el número de artículos recabados en las diferentes fases del estudio.

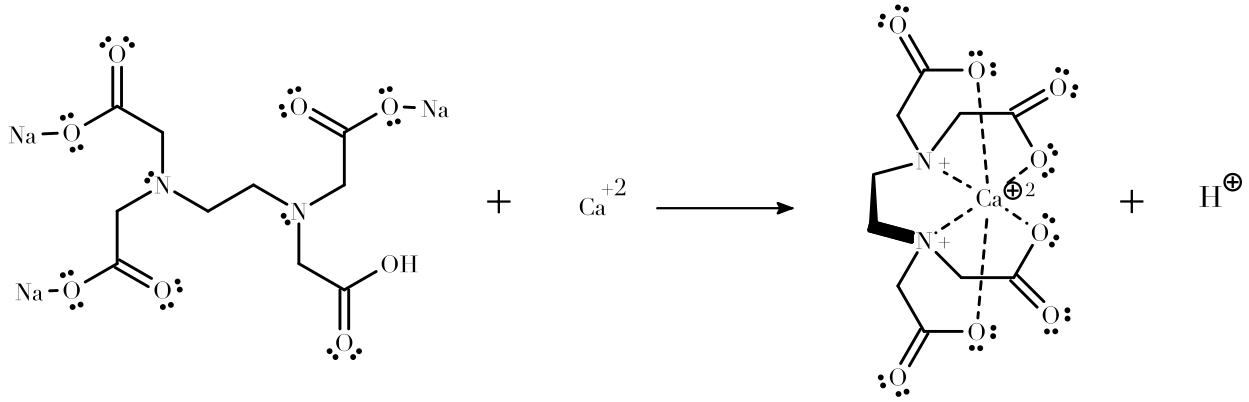
Capítulo V. Discusión y Conclusión

Irrigación final

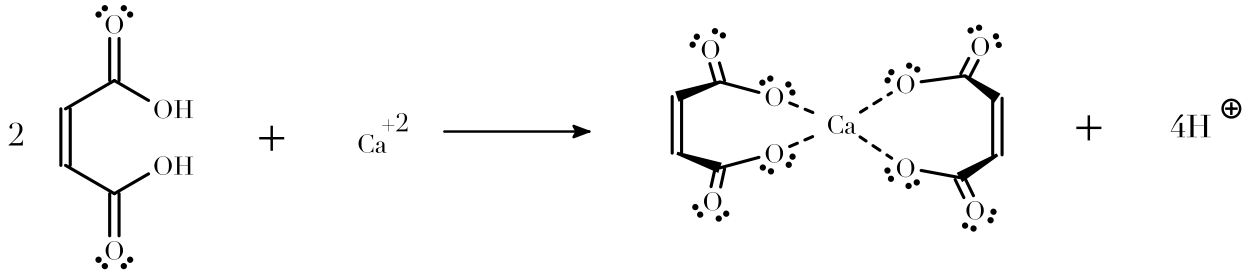
La eliminación del tejido necrótico, del tejido vital, los microorganismos y sus productos dentro del sistema del conducto radicular a través del desbridamiento químico-mecánico logra un mayor éxito en el tratamiento endodóntico. El uso de hipoclorito de sodio permite eliminar el material orgánico, sin embargo, no puede eliminar el material inorgánico. Debido a la capacidad de los agentes quelantes de eliminar el material inorgánico, se utilizan como irrigación final para lograr remover el lodillo dentinario. De los 11 artículos incluidos en esta revisión, 5 evaluaron la limpieza del lodillo dentinario; 4 son artículos originales y 1 es un artículo de revisión, dicho artículo de tipo revisión incluido en este estudio fue el único en los últimos 5 años que analiza al ácido maleico. De manera *ex vivo* mostraron que el ácido maleico al 7% como irrigación final es más eficaz en la eliminación del lodillo dentinario en tercio apical del sistema de conductos radiculares, en comparación con el EDTA al 17%, en los 5 estudios se utilizaron los criterios descritos por Torabinejad y colaboradores. (63-67).

Eliminación de lodillo dentinario y desmineralización

El EDTA posee propiedades autolimitantes por su pH neutro. Dado que el 99% del EDTA existe como $EDTAHNa_3$, el ion hidrogeno (H^+) produce el intercambio de iones calcio (Ca^{++}) (Esquema 1) de la dentina y, posteriormente, disminuye el pH, esto ocasiona un aumento de la acidez y disminuye el efecto del EDTA. A diferencia del EDTA, el ácido maleico depende de la concentración de iones de hidrógeno para su efecto de desmineralización, ya que es un ácido orgánico (Esquema 2). El pH del ácido maleico al 7% es de aproximadamente 3, la desmineralización de la dentina se produce a un pH 4-5, por lo tanto, el ácido maleico puede desmineralizar y eliminar el lodillo dentinario. Otro factor importante es el tamaño de las moléculas, esto atribuye la desmineralización limitada del EDTA por su mayor tamaño molecular que el del ácido maleico, ya que las moléculas más grandes se unirán a una menor cantidad de Ca^{++} en los conductos estrechos (64). El tiempo es fundamental para la eliminación del lodillo dentinario, el ácido maleico cuando se aplica a un tiempo inferior a los 45 segundos, las paredes en tercio cervical y medio se encuentran limpias mientras que en tercio apical se encuentran cubiertas de lodillo dentinario. Sin embargo, no existe una diferencia estadísticamente significativa comparado al EDTA al 17% durante 1 minuto en tercio cervical y medio. Cuando el tiempo de irrigación se extiende a 45 segundos se logra eliminar el lodillo dentinario por completo de todo el conducto radicular, siendo más eficiente en los tercios apicales que el EDTA.



Esquema 1. Posible quelación del ión de Calcio con EDTAHNa3 (Fuente propia)



Esquema 2. Posible quelación del ión de Calcio con Ácido maleico (Fuente propia)

Otro dato importante de irrigar durante 45 segundos es que se obtiene mayor resistencia a la fractura. Se ha demostrado que el ácido maleico en contacto directo con las paredes durante 1 minuto se obtiene una reducción significativa de la microdureza de la dentina radicular y se reduce aún más durante 3 minutos. En cambio, durante 30 segundos o 45 segundos no muestra una disminución significativa en los valores de microdureza al igual que el EDTA al 17% durante 45 segundos seguido de hipoclorito de sodio al 2.5% durante 1 minuto (65). En otro estudio cuando se comparó durante 1 minuto el ácido maleico al 7% con el EDTA al 17% no hubo diferencias significativas en los tercios coronal y apical. Sin embargo, en el tercio medio, el ácido maleico redujo más la microdureza que el EDTA al 17% (66).

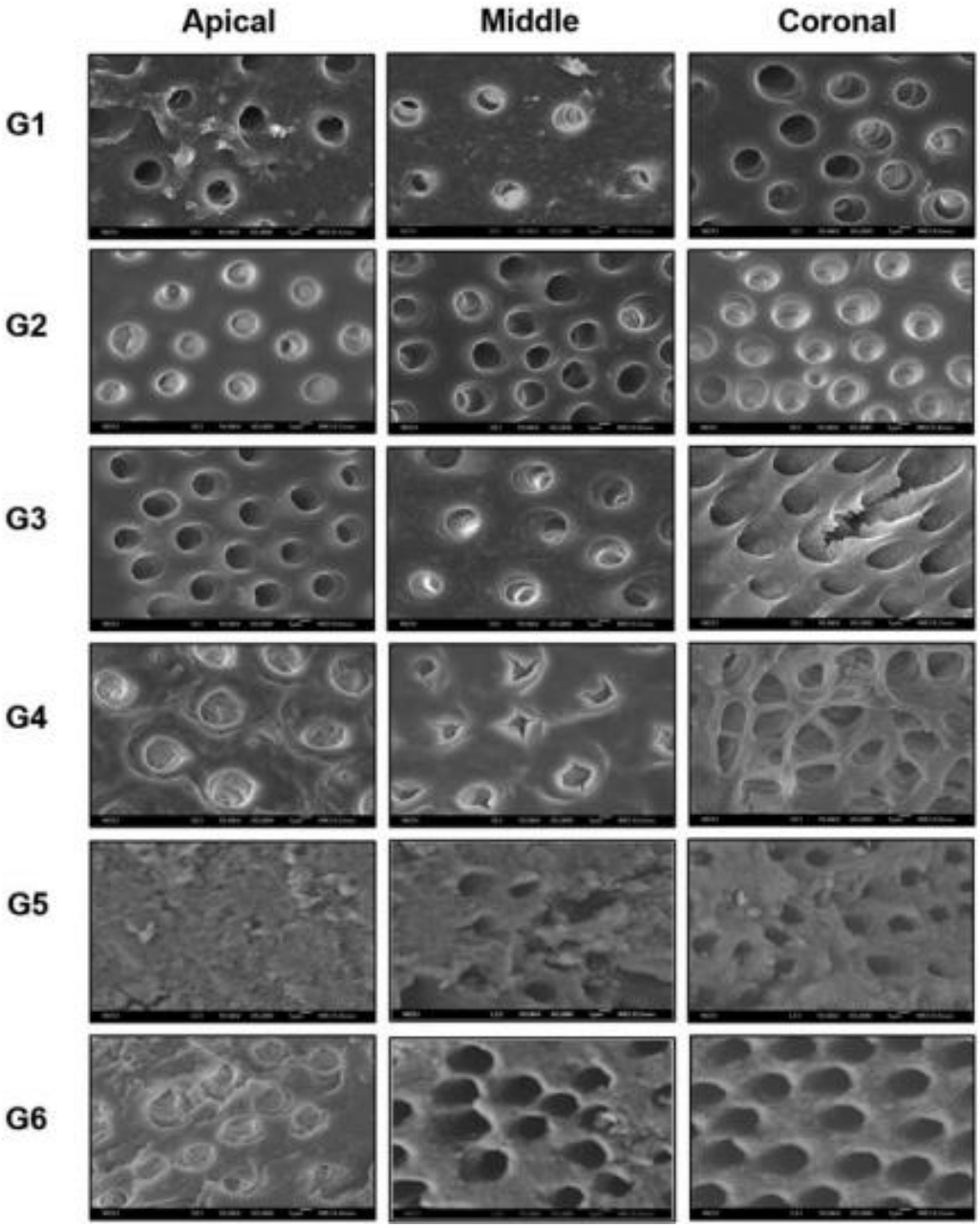


Imagen 2. Imágenes de microscopio electrónico de barrido que muestran los tercios apical, medio y cervical de las paredes del conducto radicular tratados con soluciones de prueba (aumento: 5000). G1: 30 s, 5 ml de AM al 7% + 1 min, 5 ml de NaOCl al 2,5%. G2: 45 s, 5 ml de AM al 7% + 1 min, 5 ml de NaOCl al 2,5%. G3: 1 min, 5 ml de AM al 7% + 1 min, 5 ml de NaOCl al 2,5%. G4: 3 min, 5 ml de AM al 7% + 1 min, 5 ml de NaOCl al 2,5%. G5: 45 s, 5 ml de solución salina al 0,9%. G6: 45 s, 5 ml de EDTA al 17% + 1 min, 5 ml de NaOCl al 2,5%. Barra roja: 2 µm. Fuente: Wang L et al. 2017 (65).

Aumentar el tiempo de aplicación permite una mayor eliminación del lodillo dentinario, pero esto puede traer como consecuencia la erosión de la dentina. Se ha observado una erosión evidente en la dentina del tercio coronal después de 1 min de tratamiento con ácido maleico. Después de 3 min de exposición, se observa una erosión dentinaria

peritubular e intertubular severa en toda la pared del conducto radicular y un daño a la estructura de la pared dentinaria (Imagen 2) (65). Esto puede ocasionar una fractura vertical y el fracaso del tratamiento endodóntico.

El ácido maleico es un irrigante eficaz que puede eliminar el lodillo dentinario después de la preparación del espacio del poste sin comprometer la fuerza de unión de los postes de fibra a la dentina del conducto radicular (63).

Interacción con materiales

En cuanto a la fuerza de unión de los cementos a base de silicato de calcio a las paredes del conducto radicular, la irrigación final con EDTA al 17% permite una mayor fuerza de unión cuando se utiliza Biodentine como material en comparación con el ácido maleico al 7%, aunque no hay diferencia estadísticamente significativa cuando se utiliza MTA (68).

En otro estudio *in vitro* utilizaron ProRoot MTA y determinaron que exponer un cemento agregado de trióxido mineral fraguado al ácido maleico al 7% es más perjudicial para sus propiedades físicas, al reducir su microdureza y resistencia a la flexión, en comparación con la exposición de EDTA al 17% (69). Una explicación del efecto negativo del EDTA podría ser el efecto de desmineralización sobre los materiales que contienen calcio y para el ácido maleico puede ser su pH ácido (70).

Uso en retratamientos

Por otra parte, el uso de quelantes puede ser beneficioso para lograr remover los cementos selladores a base de silicato tricálcico de las paredes del conducto radicular cuando se requiere el retratamiento del conducto. Nidambur Vasudev en el 2019, evaluó el sellador residual en surcos simulados mediante el sistema de puntuación propuesto por Van der Sluis et al., y el sellador residual en las paredes del conducto radicular mediante el sistema de puntuación propuesto por Hülsmann y Bluhm. Demostró que el ácido maleico al 7% elimina la mayor cantidad de cemento MTA Fillapex y BioRoot RCS cuando se utiliza con activación ultrasónica y con activación con láser Er:YAG. Aunque no promueve la eliminación completa de los selladores a base de silicato tricálcico de las irregularidades del conducto radicular, demuestra mejores resultados que el EDTA al 17% según las puntuaciones obtenidas (71).

Citotoxicidad

Un estudio utilizó células de fibroblasto de pulmón de hámster chino para evaluar las propiedades citotóxicas de los irrigantes. Los efectos citotóxicos se evaluaron utilizando los ensayos MTT. El ácido maleico al 7% demostró menor citotoxicidad con una fracción de supervivencia de 1.04 ± 0.06 en comparación con el EDTA al 17% que presentó 0.90 ± 0.07, ambas soluciones se diluyeron a 1:1000. Sin embargo, recomiendan que es necesario realizar más estudios *in vivo* para confirmar los resultados (72).

Capacidad antimicrobiana

Para evaluar la capacidad antimicrobiana, se utilizaron cepas de *Enterococcus faecalis* y determinaron que el EDTA solo debilita la membrana celular bacteriana sin matar la célula y promueve el desprendimiento de la biopelícula mientras que el ácido maleico inhibe el crecimiento de las células incluso cuando se diluye a 1:16 y destruye el 99,9% de las células cuando se diluye 1: 8 (72).

El ácido maleico ha demostrado tener propiedades que permiten obtener buenos resultados, inclusive mejores que el EDTA. Por lo tanto, su utilización en el área endodóntica como irrigación final puede aumentar la tasa de éxito de nuestro tratamiento, permitiendo una mejor limpieza del lodillo dentinario en tercio apical. Se deben de realizar más estudios, que además de evaluar la capacidad de limpieza, evalúen el diámetro de los túbulos dentinarios posterior a la irrigación final con el ácido maleico, para comprobar cuantitativamente si se afecta o no la estructura de los túbulos. Además, estandarizar futuras investigaciones para obtener resultados más confiables y que exista menor riesgo de sesgo, de esta manera, comparar los resultados de cada investigación será más viable y la información será de mayor validez para el estudio.

Conclusión

La irrigación final con ácido maleico al 7% durante 45 segundos induce la mayor limpieza del lodillo dentinario en todo el conducto radicular sin causar daños a la dentina, en comparación con el EDTA al 17%. La solución de ácido maleico al 7%, puede considerarse como un agente quelante de primera opción dentro de la práctica endodóntica debido a los resultados observados en esta revisión. Para aclarar la validez del ácido maleico y para determinar su indicación definitiva, se deben de realizar más estudios con condiciones estrictamente estandarizadas.

Bibliografía

1. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Root Canal Wall Dentin Structure in Uninstrumented but Cleaned Human Premolars: A Scanning Electron Microscopic Study. Journal of Endodontics. 2018;44(5):842-8.
2. Desai P, Himel V. Comparative Safety of Various Intracanal Irrigation Systems. Journal of Endodontics. 2009;35(4):545-9.
3. Căpută PE, Retsas A, Kuijk L, Chávez de Paz LE, Boutsioukis C. Ultrasonic Irrigant Activation during Root Canal Treatment: A Systematic Review. Journal of Endodontics. 2019;45(1):31-44.e13.
4. Gu L-s, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Review of Contemporary Irrigant Agitation Techniques and Devices. Journal of Endodontics. 2009;35(6):791-804.
5. Smith JJ, Wayman BE. An evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid as a root canal irrigant. Journal of Endodontics. 1986;12(2):54-8.
6. SG P. Comparison of removal of endodontic smear layer using NaOCl, EDTA, and different concentrations of maleic acid – A SEM study. J Endod. 2003;15:20-5.

7. Wayman BE, Kopp WM, Pinero GJ, Lazzari EP. Citric and lactic acids as root canal irrigants in vitro. Journal of Endodontics. 1979;5(9):258-65.
8. Marcinkiewicz J, Chain B, Nowak B, Grabowska A, Bryniarski K, Baran J. Antimicrobial and cytotoxic activity of hypochlorous acid: interactions with taurine and nitrite. Inflamm Res. 2000;49(6):280-9.
9. Hidalgo E, Bartolome R, Dominguez C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. Chem Biol Interact. 2002;139(3):265-82.
10. Só MVR, Vier-Pelisser FV, Darcie MS, Smaniotto DGR, Montagner F, Kuga MC. Pulp tissue dissolution when the use of sodium hypochlorite and EDTA alone or associated. Revista Odonto Ciência. 2011;26:156-60.
11. Taneja S, Mishra N, Malik S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: An in vitro study. J Conserv Dent. 2014;17(6):541-5.
12. Andersen M, Lund A, Andreasen JO, Andreasen FM. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. Endod Dent Traumatol. 1992;8(3):104-8.
13. Ballal NV, Kundabala M, Bhat S, Rao N, Rao BSS. A comparative in vitro evaluation of cytotoxic effects of EDTA and maleic acid: Root canal irrigants. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 2009;108(4):633-8.
14. Eswaranandam S, Hettiarachchy NS, Johnson MG. Antimicrobial Activity of Citric, Lactic, Malic, or Tartaric Acids and Nisin-incorporated Soy Protein Film Against Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157:H7, and Salmonella gaminara. Journal of Food Science. 2004;69(3):FMS79-FMS84.
15. Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz MT, González-Rodríguez MP, Baca P. Antimicrobial Activity of Maleic Acid and Combinations of Cetrimide with Chelating Agents against Enterococcus Faecalis Biofilm. Journal of Endodontics. 2010;36(10):1673-5.
16. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. J Endod. 2005;31(11):817-20.
17. Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. Clin Microbiol Rev. 1997;10(4):597-610.
18. Ballal NV, Moorkoth S, Mala K, Bhat KS, Hussen SS, Pathak S. Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. J Endod. 2011;37(10):1402-5.
19. Goldman M, White RR, Moser CR, Tenca JI. A comparison of three methods of cleaning and shaping the root canal in vitro. J Endod. 1988;14(1):7-12.
20. Ando F. [Chemical preparation in endodontic therapy. 2. Various properties of EDTA, phenolsulfonic acid and citric acid]. Aichi Gakuin Daigaku Shigakkai Shi. 1985;23(2):455-66.
21. Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative Analysis of the Effect of Irrigant Solution Sequences on Dentin Erosion. Journal of Endodontics. 2011;37(10):1437-41.
22. González-López S, Camejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolaños-Carmona V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid, or 17% EDTA. J Endod. 2006;32(8):781-4.

23. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35(5):711-4.
24. Daly CG. Anti-bacterial effect of citric acid treatment of periodontally diseased root surfaces In vitro. Journal of Clinical Periodontology. 1982;9(5):386-92.
25. Çalt S, Serper A. Time-Dependent Effects of EDTA on Dentin Structures. Journal of Endodontics. 2002;28(1):17-9.
26. Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. Int Endod J. 2003;36(12):810-30.
27. Pruitt C, Warshaw EM. Allergic Contact Dermatitis from Ethylenediaminetetraacetic Acid. Dermatitis. 2010;21(2).
28. Banfi G, Salvagno GL, Lippi G. The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. Clin Chem Lab Med. 2007;45(5):565-76.
29. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. Br Dent J. 2014;216(6):299-303.
30. Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J, Lin PS. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: Part 2. J Endod. 1982;8(11):487-92.
31. Haapasalo M, Qian W, Shen Y. Irrigation: beyond the smear layer. Endodontic Topics. 2012;27(1):35-53.
32. Schmid RW, Reilley CN. New Complexon for Titration of Calcium in Presence of Magnesium. Analytical Chemistry. 1957;29(2):264-8.
33. Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Kalayci S. Calcium loss from root canal dentin following EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl treatment with or without subsequent NaOCl irrigation. J Endod. 2007;33(5):581-4.
34. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. J Endod. 1987;13(4):147-57.
35. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. J Endod. 2002;28(1):17-9.
36. Rossi-Fedele G, Doğramaci EJ, Guastalli AR, Steier L, de Figueiredo JA. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. J Endod. 2012;38(4):426-31.
37. Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. J Endod. 2008;34(12):1521-3.
38. Patterson SS. In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium slat of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1963;16:83-103.
39. Segura JJ, Calvo JR, Guerrero JM, Jimenez-Planas A, Sampedro C, Llamas R. EDTA inhibits in vitro substrate adherence capacity of macrophages: endodontic implications. J Endod. 1997;23(4):205-8.
40. Koulaouzidou EA, Margelos J, Beltes P, Kortsaris AH. Cytotoxic effects of different concentrations of neutral and alkaline EDTA solutions used as root canal irrigants. Journal of Endodontics. 1999;25(1):21-3.
41. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res. 1981;89(4):321-8.

42. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol. 1990;6(4):142-9.
43. Clark-Holke D, Drake D, Walton R, Rivera E, Guthmiller JM. Bacterial penetration through canals of endodontically treated teeth in the presence or absence of the smear layer. J Dent. 2003;31(4):275-81.
44. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Effect of smear layer against disinfection protocols on Enterococcus faecalis-infected dentin. J Endod. 2013;39(11):1395-400.
45. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM, Walton RE. Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. J Endod. 1994;20(2):78-82.
46. Fagundes NCF, Cardoso MAG, Miranda MSL, Silva RdB, Teixeira FB, Nogueira BCL, et al. Morphological aspects and physical properties of enamel and dentine of Sus domesticus: A tooth model in laboratory research. Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger. 2015;202:71-7.
47. Marending M, Paqué F, Fischer J, Zehnder M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. J Endod. 2007;33(11):1325-8.
48. Marending M, Luder HU, Brunner TJ, Knecht S, Stark WJ, Zehnder M. Effect of sodium hypochlorite on human root dentine--mechanical, chemical and structural evaluation. Int Endod J. 2007;40(10):786-93.
49. Zhang K, Kim YK, Cadenaro M, Bryan TE, Sidow SJ, Loushine RJ, et al. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. J Endod. 2010;36(1):105-9.
50. Wang X, Bank RA, TeKoppele JM, Agrawal CM. The role of collagen in determining bone mechanical properties. J Orthop Res. 2001;19(6):1021-6.
51. Craig Baumgartner J, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. Journal of Endodontics. 1987;13(4):147-57.
52. Zhang K, Tay FR, Kim YK, Mitchell JK, Kim JR, Carrilho M, et al. The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. Dent Mater. 2010;26(6):514-23.
53. Tartari T, Bachmann L, Zancan RF, Vivan RR, Duarte MAH, Bramante CM. Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine. Int Endod J. 2018;51 Suppl 1:e42-e54.
54. Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. J Endod. 2011;37(10):1437-41.
55. de Assumpção Pereira-da-Silva M, Ferri FA. 1 - Scanning Electron Microscopy. In: Da Róz AL, Ferreira M, de Lima Leite F, Oliveira ON, editors. Nanocharacterization Techniques: William Andrew Publishing; 2017. p. 1-35.
56. Loel DA. Use of acid cleanser in endodontic therapy. The Journal of the American Dental Association. 1975;90(1):148-51.
57. Baumgartner JC, Brown CM, Mader CL, Peters DD, Shulman JD. A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite, and citric acid. Journal of Endodontics. 1984;10(11):525-31.
58. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. J Endod. 2003;29(3):170-5.

59. Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the Efficacy of Three Chelating Agents in Smear Layer Removal. Journal of Endodontics. 2008;34(5):599-602.
60. Tidmarsh BG. Acid-cleansed and resin-sealed root canals. Journal of Endodontics. 1978;4(4):117-21.
61. Crigger M, Renvert S, Bogle G. The effect of topical citric acid application on surgically exposed periodontal attachment. Journal of Periodontal Research. 1983;18(3):303-5.
62. Ballal V, Kandian S, Mala K, Bhat K, Shashirashmi A. Comparison of the Efficacy of Maleic Acid and Ethylenediaminetetraacetic Acid in Smear Layer Removal from Instrumented Human Root Canal: A Scanning Electron Microscopic Study. Journal of endodontics. 2009;35:1573-6.
63. Fan F, Ibrahim M, Dai P, Mao Y, He B, wu G, et al. Effect of maleic acid on the bond strength of fibre posts to root dentine. European Journal of Oral Sciences. 2017;125.
64. Jaiswal S, Patil V, Satish Kumar KS, Ratnakar P, Rairam S, Tripathi S. Comparative analysis of smear layer removal by conventional endodontic irrigants with a newly experimented irrigant-fumaric acid: A scanning electron microscopic study. Journal of conservative dentistry : JCD. 2018;21(4):419-23.
65. Wang L, Zhao Y, Mei L, Yu H, Muhammad I, Pan Y, et al. Effect of application time of maleic acid on smear layer removal and mechanical properties of root canal dentin. Acta Odontol Scand. 2017;75(1):59-66.
66. Ballal NV, Khandewal D, Karthikeyan S, Somayaji K, Foschi F. Evaluation of Chlorine Dioxide Irrigation Solution on the Microhardness and Surface Roughness of Root Canal Dentin. Eur J Prosthodont Restor Dent. 2015;23(4):173-8.
67. Mohammadi Z, Jafarzadeh H, Shalavi S, Kinoshita JI. Unusual Root Canal Irrigation Solutions. J Contemp Dent Pract. 2017;18(5):415-20.
68. Ballal NV, Ulusoy Ö, Chhaparwal S, Ginjupalli K. Effect of novel chelating agents on the push-out bond strength of calcium silicate cements to the simulated root-end cavities. Microsc Res Tech. 2018;81(2):214-9.
69. Ballal NV, Sona M, Tay FR. Effects of smear layer removal agents on the physical properties and microstructure of mineral trioxide aggregate cement. J Dent. 2017;66:32-6.
70. Ballal V, Marques JN, Campos CN, Lima CO, Simão RA, Prado M. Effects of chelating agent and acids on Biodentine. Aust Dent J. 2018;63(2):170-6.
71. Ballal NV, Ulusoy Ö, Rao S, Gandhi P. The efficacy of different irrigation protocols in removing tricalcium silicate-based sealers from simulated root canal irregularities. Microsc Res Tech. 2019;82(11):1862-8.
72. Giardino L, Bidossi A, Del Fabbro M, Savadori P, Maddalone M, Ferrari L, et al. Antimicrobial activity, toxicity and accumulated hard-tissue debris (AHTD) removal efficacy of several chelating agents. International Endodontic Journal. 2020;53(8):1093-110.