

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EDTA CONTRA *Fusobacterium nucleatum*  
y *Enterococcus faecalis* (ESTUDIO IN VITRO)**

**Por**

**KAREN IVETTE RANGEL TERÁN**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia**

Noviembre, 2021

**EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EDTA CONTRA *Fusobacterium nucleatum*  
y *Enterococcus faecalis* (ESTUDIO IN VITRO)**

---

**RANGEL TERÁN KAREN IVETTE  
TESISTA**

**Comité de Tesis**

---

**DRA. MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS  
DIRECTOR DE TESIS**

---

**DRA. FANNY LÓPEZ MARTÍNEZ  
CO- DIRECTOR DE TESIS**

---

**DRA. MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS  
ASESOR METODOLÓGICO**

**Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia**

**EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EDTA CONTRA *Fusobacterium nucleatum* y  
*Enterococcus faecalis* (ESTUDIO IN VITRO)**

---

**C.D.M.Sc. JORGE JAIME FLORES TREVIÑO**  
COORDINADOR DEL POSGRADO DE ENDODONCIA

---

**C.D.M.O.A. ROSA ISELA SÁNCHEZ NÁJERA PhD**  
SUBDIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE  
ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EDTA CONTRA *Fusobacterium nucleatum* y  
*Enterococcus faecalis* (ESTUDIO IN VITRO)**

**APROBACION DE LA TESIS**

LOS MIEMBROS DEL JURADO ACEPTAMOS LA INVESTIGACION Y APROBAMOS EL DOCUMENTO QUE AVALA LA MISMA; COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MESTRIA EN CIENCIAS ODONTOLOGICAS EN EL AREA DE ENDODONCIA.

**HONORABLES MIEMBROS DEL JURADO**

---

**C.D.M.Sc. JORGE JAIME FLORES TREVIÑO**  
PRESIDENTE

---

**Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos**  
SECRETARIO

---

**Dr. Casiano del Ángel Mosqueda**  
VOCAL

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente darle gracias a DIOS por darme mucha vida llena de salud y Fe, parte fundamental en este gran proyecto que me lleno de fortaleza para nunca desistir de esta etapa tan importante de mi vida, que a pesar de mil obstáculos se puedo llegar a la meta anhelada.

A mi mamá Felicitas por siempre impulsarme a ser alguien mejor en este mundo y como ella dice “querer es poder, y esta ocasión se pudo lograr este gran objetivo.

A mis hermanas Paola y Gabriela por ser siempre esas porristas eternas que Dios me mandó, nunca me dejaron rendirme y siempre tuvieron palabras de apoyo y motivación para dar más del 100% en éste posgrado, espero ser un gran ejemplo en esta vida para ellas y que me superen cada día más y ser un buen ejemplo para ustedes.

Al Dr. Orlando Arellano gran amigo, por darme las palabras exactas de motivación en los momentos más difíciles, por el infinito apoyo y por creer en mí y tenerme gran confianza.

A José Luis por siempre apoyarme en este camino de estudio, creer en mí en todo momento, tolerar mis cambios de humor cuando estaba muy estresada llenando esos momentos con mucho amor y gran motivación.

A mi tía Mauricia por motivarme día a día y decirme en cada momento que soy muy capaz y que todo en esta vida lo puedo lograr .

A Raúl “mi mascota” por ser el fiel compañero de estudio en altas horas de la noche.

Agradezco a la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León y así mismo al Posgrado de Endodoncia de la UANL por la gran oportunidad de ser parte de esta gran casa de estudios.

Mis agradecimientos y respeto a todos mis profesores, en especial a mi directora de tesis Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos por su gran apoyo en esta investigación, gracias por tener la confianza en mí, orientarme en el laboratorio y enseñarme que la ciencia y la clínica son uno mismo, a mi Codirector de tesis Fanny López Martínez por siempre tener las palabras clave de motivación y nunca desistir en este camino .

Al Dr. Jorge Jaime Flores Treviño, por darme la oportunidad de ser parte de este posgrado, por regalarme grandes conocimientos que llevare toda mi vida.

A mis compañeros y amigos de generación por compartir risas, conocimientos, pero sobretodo una gran hermandad: Dariela, Ayari, Vania, Alondra, Alex y Miguel, Muchas Gracias.

## **DEDICATORIA**

La presente tesis se la dedico a DIOS sin el nada de esto sería posible.

A mi mama Felicitas, a mis hermanas Paola y Gabriela, Dr. Orlando, José Luis, por siempre motivarme en este camino que a pesar de muchos tropiezos se pudo salir adelante y poder cumplir uno de mi grandes sueños académico realizar un posgrado en esta gran casa de estudios la UANL.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>5</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA DE TABLAS .....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>10</b>
<b>NOMENCRATURA.....</b>	<b>11</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>12</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>14-15</b>
<b>1. HIPÓTESIS .....</b>	<b>16</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
3.1 OBJETIVO GENERAL	
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	
<b>3. ANTECEDENTES .....</b>	<b>18- 29</b>
4.1 IRRIGACIÓN EN LA TERAPIA ENDODONTICA	
4.1.1 EDTA (Ácido etilendiaminotetracético)	
4.1.2. HIPOCLORITO DE SODIO	
4.1.3 CLORHEXIDINA	
4.1.4 PROPIEDADES DE UN AGENTE IRRIGANTE	
4.1.5 MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD ENDODÓNTICA	
4.1.6 <i>Fusobacterium nucleatum</i>	
4.1.7 <i>Enterococcus faecalis</i>	
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>29-35</b>
5. 1 COLECTA DE ESPECÍMENES DENTALES Y PROTOCOLO POSEXTRACCIÓN	
5.2 PREPARACION DE LOS ORGANOS DENTALES	
5.3 ACTIVACION DE CEPAS	

## 5.4 ELABORACION DE MEZCLAS BACTERIANA Y TOMA DE MUESTRAS

<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>36-41</b>
6.1 <i>Fusobacterium nucleatum</i>	
6.2 <i>F. Enterococcus faecalis</i>	
6.3 <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Fusobacterium nucleatum</i> (mixto)	
<b>7. DISCUSIÓN .....</b>	<b>42-43</b>
<b>8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>44-45</b>
<b>9. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>46-49</b>
<b>10. RESUMEN BIOGRÁFICO .....</b>	<b>50</b>

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
<b>Grafica. 1</b> Porcentaje del Efecto antimicrobiano <i>E. faecalis</i> después de la incubación durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d.....	37
<b>Cuadro 1.</b> Comparaciones Múltiples de <i>E. faecalis</i> en T24.....	37
<b>Cuadro 2.</b> Comparaciones Múltiples en T7 cultivo <i>E. faecalis</i> .....	38
<b>Grafica. 2:</b> Porcentaje del Efecto antimicrobiano <i>F. nucleatum</i> después de la incubación durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d .....	39
<b>Cuadro 3.</b> Comparaciones Múltiples de <i>F. nucleatum</i> en T24 .....	39
<b>Cuadro 4.</b> Comparaciones Múltiples en T7 cultivo <i>F. nucleatum</i> .....	40
<b>Gráfica 3. (Mixto)</b> Porcentaje del Efecto antimicrobiano <i>F. nucleatum</i> y <i>E. faecalis</i> después de la incubación durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d.....	41
<b>Cuadro 5.</b> Comparaciones Múltiples ( <b>Mixto</b> ) <i>F. nucleatum</i> y <i>E. faecalis</i> en T24.....	41
<b>Cuadro 6.</b> Comparaciones Múltiples ( <b>Mixto</b> ) <i>F. nucleatum</i> y <i>E. faecalis</i> en T7.....	42

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
Figura 1 – 2 Protocolo Posextracción.....	30
Figura 3 Inoculación de Bacterias con cada bacteria designada.....	31
Figura 4 Toma de muestra con puntas de papel estéril.....	32
Figura 5 Toma de lectura bacteriana .....	33
Figura 6 Activación de cepas.....	34
Figura 7 Conteo bacteriano apoyado con un Espectometro DO 600 (BIO-RAD-SmartPec Plus .....	36

## NOMECLATURA

- NaClO      Hipoclorito de Sodio
- EDTA      Ácido etilendiaminotetraacético
- CHX      Clorhexidina
- WOG      WaveOne Gold

**TESISTA: KAREN IVETTE RANGEL TERÁN**  
**DIRECTOR DE TESIS: DRA. MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS**  
**CODIRECTOR DE TESIS: DRA. FANNY LÓPEZ MARTÍNEZ**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EDTA CONTRA *Fusobacterium nucleatum* y  
*Enterococcus faecalis* (ESTUDIO IN VITRO)

### **RESUMEN**

**Introducción:** Los Irritantes tradicionalmente han y son usados para una mejor limpieza en el conducto radiculares, el más utilizado el Hipoclorito de sodio solución económica, eficaz y fácil adquisición, da grandes ventajas para la limpieza radicular, tóxico para con los tejidos perirradiculares de los órganos dentales, causando molestias a los pacientes después y durante su tratamiento, si se llega a extrudir causa una lesión grave e irreversible la necrosis de tejidos. **Objetivo:** Comparar la combinación de Irrigantes y saber el Efecto antimicrobiano del EDTA contra *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis* (estudio in vitro) **Metodología:** Dientes extraídas , conservados en antibiótico, posteriormente se cortaron las coronas y se esterilizaron para tener cada pieza como un tubo Eppendorf natural, se inicia la instrumentación rotatoria, la instrumentación no se termina por completo, se hicieron 3 grupos de 20 dientes cada uno y un control , para usar diferentes métodos de aplicación de los irrigantes que son : Agua estéril(control), NaOCl, EDTA(Líquido), EDTA (GEL) ,CHX(gel), el 1er Gpo: se infectaron los conductos : Enterococcus Feacalis , Gpo 2. Con *Fusobacterium nucleatum*, 3er Gpo. (Mixto) *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus feacalis*, se incubaran durante 24 horas y 7 días. **Resultados:** el EDTA irrigante fue el más sobresaliente , presento un efecto antimicrobiano desde las primeras horas, con la combinación de ambas bacterias en un grupo mixto e independiente con cada bacteria (*Fusbacterium nucleatum* y *Enterococcus feacalis*) a las 24 horas y 7 días. **Conclusión:** El análisis estadístico demostró que la eliminación de bacterias de los irrigantes utilizados de mayor a menor fue el siguiente: EDTA 17 %, NaOCl al 5.25%, Clorhexidina 2 %, agua esteril.

**TESISTA: KAREN IVETTE RANGEL TERÁN**  
**DIRECTOR DE TESIS: DRA. MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS**  
**CODIRECTOR DE TESIS: DRA. FANNY LÓPEZ MARTÍNEZ**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EDTA CONTRA *Fusobacterium nucleatum* y  
*Enterococcus faecalis* (ESTUDIO IN VITRO)

### **ABSTRACT**

**Introduction:** Irritants traditionally have and are used for a better cleaning of the root canal, the most widely used sodium hypochlorite, an economical, effective and easy to acquire solution, gives great advantages for root cleaning, toxic to the periradicular tissues of the dental organs, causing the patients after and during their treatment, if it extrudes, it causes a serious and irreversible tissue necrosis. **Objective:** To compare the combination of Irrigants and to know the antimicrobial effect of EDTA against *Fusobacterium nucleatum* and *Enterococcus faecalis* (in vitro study) **Methodology:** Extracted teeth, preserved in antibiotic, then the crowns were cut and sterilized to have each piece as an Eppendorf tube natural, the rotary instrumentation begins, the instrumentation is not completed completely, 3 groups of 20 teeth each and a control were made, to use different methods of application of the irrigants that are: Sterile water (control), NaOCl, EDTA (Liquid), EDTA (GEL), CHX (gel), 1st Gpo: the ducts were infected: *Enterococcus faecalis*, Gpo 2. With *Fusobacterium nucleatum*, 3rd Gpo. (Mixed) *Fusobacterium nucleatum* and *Enterococcus faecalis*, were incubated for 24 hours and 7 days. **Results:** the irrigating EDTA was the most outstanding, it presented an antimicrobial effect from the first hours, with the combination of both bacteria in a mixed and independent group with each bacterium (*Fusobacterium nucleatum* and *Enterococcus faecalis*) at 24 hours and 7 days. **Conclusion:** The statistical analysis showed that the elimination of bacteria from the irrigants used from highest to lowest was as follows: EDTA 17%, NaOCl 5.25%, Chlorhexidine 2%, sterile water.

## 1.- Introducción

El éxito del tratamiento endodóntico depende de la erradicación la mayor parte de microbios de los conductos radiculares, evitando infecciones o bien disminuir las que ya presenta. Los conductos radiculares se han tratado con múltiples instrumentos rotatorios manuales apoyados de una irrigación constante para extirpar el tejido inflamado, necrótico etc.

La instrumentación por sí sola no permite el completo la desinfección y el desbridamiento De los conductos radiculares ya que es muy difícil y complejo.

Los Irrigantes por mucho tiempo se han utilizado y aplicados con diferentes tipos de jeringas de diferentes calibres para tener un mejor acceso al conducto, diversos Irrigantes con el paso del tiempo esto son modificados químicamente para dar un mejor efecto antimicrobiano, de igual manera la modificación de instrumentos mecánicos estos permiten cada vez más un mejor desbridamiento y acceso en todo tipo de casos.

El hipoclorito de sodio (NaOCl) dominado como el Gold estándar de los Irrigantes desde mucho tiempo sabemos que es un excelente agente antimicrobiano, es la más utilizada durante los tratamientos endodónticos , arroja grandes resultados, disolución de tejido orgánico, eliminación de microorganismos , sabiendo de antemano que es tóxico en los tejidos perirradiculares de los órganos dentales , lo cual en algunas puede causar algunas molestias posoperatorias, necrosis en los tejidos de soporte dental y edema en la zona tratada.

La presente investigación se llevó en práctica con una finalidad muy específica , buscar cual irrigante que realice una buena eliminación de bacterias que se encuentran dentro de los conductos radiculares , evitando cualquier tipo de daño en los tejidos de sostén dental.

Actualmente existen estudios donde avalan la combinación de irrigantes dan por resultado un buen efecto antimicrobiano, usando un previo inter irrigante entre diferentes sustancias como lo es el NaOCl y el EDTA.

¿Cuál es el Efecto Antimicrobiano del EDTA contra *F. nucleatum* y *E. faecalis*?

La presente investigación tiene un objetivo claro, encontrar que combinación de irrigantes y cómo aplicarlos, comparar el efecto antimicrobiano del EDTA contra *F. nucleatum* y *E. faecalis* (estudio in vitro), para así eliminar la mayor cantidad de bacterias dentro de los conductos radiculares y evitar un daño colateral a los tejidos aledaños como los son los tejidos perirradiculares.

La concentración de hipoclorito de sodio (NaOCl) tiene un mejor efecto que las soluciones al 1 y 2% y el Ácido etilendiaminotetracético (EDTA) es necesario como enjuague final para eliminar la capa de frotis. Se puede utilizar agua estéril o solución salina entre estos dos irrigantes, sin embargo, no deben ser las únicas soluciones utilizadas, tal y como no hicimos nosotros aplicando un inter irrigante (agua esteril) para evitar el menor contacto de nuestros irrigantes prevenir que baje su efectividad antimicrobiana.

## 2.- Hipótesis

“El EDTA es un antimicrobiano capaz de eliminar microorganismos presentes en intraconductos, como *Enterococcus faecalis*, y *Fusobacterium nucleatum*, patógenos presentes en la periodontitis apical con sus combinación en los irrigantes”.

## Objetivos

### 3.- Objetivos Generales

Evaluar la combinación de irrigantes y su potencial antimicrobiano del EDTA, contra los principales patógenos endodónticos *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis*, en dientes infectados

#### 3.1.- Objetivos específicos

- Evaluar el potencial antimicrobiano del EDTA, contra los principales patógenos endodónticos *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis* en dientes infectados
- Comparar la acción antimicrobiana del EDTA contra Irrigantes comúnmente utilizados en la práctica endodóntica actual, las más accesibles y ver como ayudan a la irrigación al combinarlas con cierto protocolo.
- Analizar la inhibición de *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis* ante diferentes diluciones de EDTA.

## 4. Antecedentes

### 4.1 Irrigación en la Terapia Endodóntica

El principal factor etiológico en la enfermedad endodóntica es de origen bacteriano, fundamentalmente empieza por la caries dental que es una enfermedad microbiana de los tejidos calcificados del diente, caracterizada por la desmineralización de la porción inorgánica y la destrucción de la porción orgánica del diente.(Cohen *et al.*, 2006)

La irrigación es una parte clave del éxito del tratamiento del conducto radicular. Tiene varias funciones importantes, que pueden variar según el irrigante utilizado: reduce la fricción entre el instrumento y la dentina, mejora la eficacia de corte de las limas, disuelve el tejido, enfría la lima y el diente y, además, tiene un efecto de lavado y un efecto antimicrobiano / antibiopelícula. La irrigación es también la única forma de impactar aquellas áreas de la pared del conducto radicular que no son tocadas por instrumentación mecánica. (Haapasalo *et al.*, 2014)

La Búsqueda buscar un irrigante que cumpla con las características ideales, que tenga la capacidad de disolver el tejido orgánico y que a la vez no irrite los tejidos periapicales se han hecho investigaciones tratando de buscar una alternativa confiable para la irrigación del sistema de conductos radiculares. Es por ello que en ésta investigación se utilizaron soluciones de superoxidación que prometen eficaz eliminación en bacterias y evitan la irritación de tejidos periapicales. Durante los últimos 20 años, las soluciones de súper oxidación (SOSS) han demostrado ser potentes agentes antimicrobianos y desinfectantes a través de daño Oxidativo. (Yang and Swem *et al.*, 2003).

Las infecciones de origen endodóntico son producidas por microorganismos que ganan acceso a la pulpa normalmente estéril y tejidos periapicales, se ha comprobado que estas infecciones son polimicrobianas con una predominancia de bacterias anaerobias estrictas. (Baumgartner *et al.*, 2004)

La periodontitis apical es una enfermedad infecciosa causada por microorganismos que colonizan el sistema de conductos radiculares. Para un resultado óptimo del tratamiento de endodoncia para ser logrado, poblaciones bacterianas dentro del conducto radicular idealmente debe ser eliminado o al menos significativamente reducido a niveles que son compatibles con perirradicular curación de tejidos (Siqueira *et al.*, 2008)

Se dice que Durante muchas décadas, se ha centrado en cómo podemos mejorar la eficiencia de algo tan básico pero de suma importancia para el odontólogo, de la instrumentación en el desbridamiento del sistema de conducto radicular y cómo podemos amplificar la famosa actividad antimicrobiana de las soluciones de desinfección. Aunque la instrumentación es necesaria, para que pueda permitir una irrigación efectiva, y también poder tiene mayores efectos potencialmente negativos, como la producción de restos de dentina y las capas de frotis. La capa de frotis puede contener bacterias y material antigénico de microorganismos, y puede actuar como un sustrato al que se pueden unir nuevos microbios. Además, la capa de frotis actúa como una barrera física contra los agentes desinfectantes, lo que se dificulta la destrucción de bacterias en los túbulos dentinarios previamente infectados. (Torabinejad *M. et al.*, 2002)

*Enterococcus faecalis* es un microorganismo anaerobio facultativo grampositivo que generalmente se encuentra en endodoncia primaria. Infecciones, así como en casos de fracaso del tratamiento del conducto radicular. Esta especie es altamente resistente a los convencionales. Técnicas de preparación quimiomecánica y adhiere, prolifera y penetra en los túbulos dentinarios en una biopelícula forma, y sobrevive durante largos períodos en un entorno con nutrientes limitados (Dal Bello *et al.*, 2019)

*Enterococcus faecalis* se considera un patógeno predominante para las infecciones periapicales persistentes y además, según se informa, es resistente al calcio medicación con hidróxido (Wu *et al.*, 2019)

*Fusobacterium nucleatum* son gramnegativos, inmóviles, no formadores de esporas, obligados bastones anaeróbicos, se encuentran comúnmente como autóctono de la cavidad bucal humana. Aunque se informa que hasta siete especies conocidas de fusobacterias son patógenas, cepa común en los humanos (Jacinto *et al.*, 2008)

Las complejidades anatómicas del sistema de conductos radiculares limitan el efecto de instrumentación mecánica. En consecuencia, hay presencia de bacterias restantes y residuos de contenido orgánico en varias regiones incluyendo la luz del conducto radicular, sus paredes y ramas, dentina túbulos, istmos e irregularidades (Cardoso *et al.*, 2018)

Cada endodoncia procedimiento altera la inicial adherencia de *Enterococcus faecalis* en el conducto radicular y las propiedades superficiales del dentina también. (Yu *et al.*, 2019)

La solución de hipoclorito de sodio fue introducida en la medicina en 1847 por Semmelweis, para la desinfección de las manos. (Ingle *et al.*, 1979)

Al término de la Primera Guerra Mundial, la solución de Dakin fue utilizada para tratar las heridas infectadas. Así el uso de soluciones a partir del hipoclorito de sodio, comienza a aplicarse para el tratamiento de conductos infectados en el área endodotal (Dakin *et al.*, 1915)

Antes de 1940, el agua destilada era el irrigante endodóntico habitualmente utilizado, igualmente se utilizaron ácidos como el ácido clorhídrico al 30% y ácido sulfúrico al 50% sin entender los peligros que estos agentes ocasionarían a los tejidos periradiculares. (Lasala *et al.*, 1915)

Walker reconoce la importancia de la solución irrigadora, recomendando el uso del agua clorinada, doblemente reforzada para el proceso de irrigación, debido a sus propiedades de disolver las proteínas y por su acción germicida, consiguiendo con ello la eliminación total del tejido pulpar. (Walker *et al.*, 1936)

Preconiza la irrigación del sistema de conductos radiculares con peróxido de hidrógeno , el cual lo combina con hipoclorito de sodio, aplicándolo en forma alternada, consiguiendo de esta manera una mayor limpieza, obtenida por la efervescencia debida al oxígeno naciente que libera el agua oxigenada. (Grossman and Meiman *et al .*,1941).

La irrigación como parte de la aplicación de métodos mecánicos destinados a la exploración, ensanchamiento y preparación de los conductos radiculares, para recibir la obturación definitiva, que, constituye el recurso preponderante en la conductoterapia. (Pucci, *et al .*, 1945)

Debido a la compleja anatomía de espacios del conducto radicular, el uso de varias técnicas de instrumentación por sí solo no es eficaz para producir espacios del conducto radicular libres de bacterias. (Abuhaimed *et al.*, 2017)

Se cree que la irrigación elimina automáticamente los restos de tejido orgánico; puede emplearse para arrastrar los restos alimentarios si el conducto ha quedado abierto para mantener el drenaje durante el estadio agudo de un absceso alveolar. (Seidberg and Schilder *et al .*,1974)

La aparición del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), determinó que tanto los ácidos inorgánicos como álcalis usados en la preparación biomecánica, cayeran en desuso. A la fórmula original propuesta por Östby en 1957, del EDTA al 17%, se agregó posteriormente el bromuro de acetiltrimetil amonio (Cetavión), compuesto de amonio cuaternario, que sin disminuir la acción quelante del EDTA, le proporciona propiedades antibacterianas y facilita la humectación de las paredes radiculares, a este compuesto, se le conoce como EDTAC. (Östby *et al .*, 1957)

En 1969, Stewart et al. Propusieron el uso de EDTA al 15%, peróxido de urea al 10% y una base homogenizada de carbowax soluble en agua, compuesto conocido comercialmente como técnica telese Rc-prep. (Stewart *et al.*, 1969)

El uso combinado con soluciones de NaOCl debe ser evitado con el EDTA no se deben mezclarse dichas soluciones dando poca efectividad (Krishnan *et al.*, 2017)

Un preparado comercial de ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) con bromuro de cetil trimetilamonio, solución de hidróxido de sodio y agua (REDTA), es señalado por McComb como agente efectivo para limpiar químicamente las paredes del conducto, eliminando el tejido inorgánico remanente e incluyendo la capa de desecho creada durante la instrumentación del sistema de conductos. (McComb and Smith *et al.*, 1975)

Ingle opinó que la irrigación debe realizarse en una secuencia alternada con agua oxigenada y su fase final se hará siempre con el hipoclorito de sodio, para prevenir la formación de gases en el interior de los conductos. De ahí, la importancia de que la última solución irrigante sea el hipoclorito de sodio. (Ingle *et al.*, 2004)

Parsons sugieren la utilización de la clorhexidina, como irrigante en la terapia endodóntica. Estudiaron las propiedades de adsorción y liberación de éste agente, sobre especímenes de ganado bovino y observaron que ésta tenía propiedades antibacterianas, hasta por una semana después de aplicada. (Parsons *et al.*, 1980)

El uso de ácido cítrico como agente para la irrigación del sistema de conductos radiculares, éste es un agente quelante que reacciona con los metales para formar un quelato soluble aniónico; igualmente, observaron que los efectos sobre la remoción de la capa de desecho obtenida con el ácido es similar a aquellos donde se utilizó EDTA. (Goldmann *et al.*, 1988)

#### 4.1.2 EDTA (ácido etilendiaminotetraacético)

Los médicos se enfrentan a problemas para crear coágulo de sangre durante los REP, especialmente con un tiempo de coagulación prolongado. EDTA tiene una alta afinidad por quela los iones de calcio de la sangre. (Taweewattanapaisan *et al.* , 2018)

Agente quelante, tiene las posibilidades químicas de con iones metálicos, soluble en agua para usos diversos, se recomienda como parte de los protocolos de riego endodóntico. Su acción principal es eliminar la capa de frotis para mejorar la penetración de otros Irrigantes debido a su acción quelante, la actividad antifúngica de EDTA se atribuye a su capacidad para disminuir la actividad metabólica mediante la extracción de iones de calcio de la pared celular, pero también por sus propiedades antifúngica y su capacidad para inhibir el crecimiento Microbiano después del tratamiento dental. (Alshanta *et al.*, 2019)

Se demostró que una cantidad determinable de dentina puede quedarse con una cantidad conocida de EDTA. ( Seidberg, *et al.*, 1973)

La acumulación de restos de tejido duro durante el proceso de limpieza y modelado es un fenómeno bien aceptado. Esta capa de frotis tridimensional puede representar el 6% de el volumen total del molar mandibular de la raíz mesial después de la instrumentación (8), y solo el 50% de estas partículas se eliminan mediante agentes quelantes fuertes como el EDTA. (Arias *et al.*, 2016)

Cuando se usa EDTA como intermedio y NaOCl como principal solución, aumento de la disolución de la mucosa palatina dentro de los surcos artificiales en el conducto radicular (Estevez *et al.*, 2017)

En procedimientos de endodoncia regenerativa (REP), un coágulo de sangre actúa como un andamio natural para regenerar el tejido de la pulpa dental. En protocolos actuales,

17% EDTA se recomienda para liberar factores de crecimiento de la dentina radicular. Aunque el EDTA afecta la formación de coágulos, en estudios periodontales, el efecto anticoagulante de EDTA no se ha mostrado en REPs. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo Evaluar los efectos del 17% de EDTA sobre las características y la densidad de fibra de los coágulos sanguíneos utilizando in vitro bloques de dentina. (Jeeraphat *et al.*, 2018)

En endodoncia regenerativa, el riego es un paso importante para asegurar el éxito del tratamiento. EDTA como irritante común ha sido recomendado en las Asociaciones americana de Endodoncia directrices. Se ha sugerido que la dentina tratada con EDTA cortes podrían aumentar el accesorio, diferenciación y migración de las células madre de la pulpa dental. Sin embargo, no se dispone de información sobre el efecto del EDTA sobre la migración de las células de la pulpa dental (Linyi *et al.*, 2007)

Recientemente, se sugirió EDTA para mejorar la liberación de algunos factores de crecimiento de dentina, como factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ), crecimiento endotelial vascular factor y factor de crecimiento derivado de plaquetas, que fueron beneficiosos para la proliferación y diferenciación de células, lo que resulta en la formación de dentina. (Liu L *et al.*, 2019)

#### 4.1.2 HIPOCLORITO DE SODIO

Tiene un pH alcalino entre 10,7 y 12,2, es excelente lubricante y blanqueador, posee una tensión superficial baja, posee una vida media de almacenamiento prolongada y es poco costoso. (Hülsmann *et al.*, 1998)

La variación en respuesta al hipoclorito de sodio podría estar relacionada a la variación en la metodología, forma (gel versus líquido) y concentración de hipoclorito de sodio, tiempo de aplicación (Abuhaimed *et al.*, 2017)

Se considera la solución irrigadora más utilizada en la práctica actual, por ser la que más se acerca a las condiciones ideales por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital y además de poseer un amplio efecto antibacteriano, matando rápidamente bacterias, esporas, hongos y virus (incluyendo el HIV, rotavirus, HSV-1 y el virus de la hepatitis A y B). (*Siqueira et al., 2000*)

El hipoclorito de sodio (NaOCl), un compuesto halogenado, se usa habitualmente para irrigar el conducto radicular durante los tratamientos de endodoncia. NaOCl es conocido por su acción antibacteriana, su capacidad proteolítica y de disolución y sus propiedades de desbridamiento, sin embargo, NaOCl puede alterar la composición de la dentina y, por lo tanto, su interacción con las resinas adhesivas utilizadas para unir los materiales restauradores a la dentina tratada. (*Tariq et al., 2017*)

#### 4.1.3 CLORHEXIDINA

Penetra en las capas de la pared celular externa de los microbios y ataca la membrana interna, la membrana citoplasmática en las bacterias y la membrana plasmática en las células de levadura. En altas concentraciones, CHX tiene la capacidad de coagular constituyentes intracelulares de las células microbianas. También se ha informado el efecto antiviral de CHX. Otra razón para la desinfección inadecuada es que los irritantes como el hipoclorito de sodio y la clorhexidina son excelentes desinfectantes de la superficie que no penetran completamente en las placas de biopelículas. Estas consisten en comunidades de bacterias unidas a superficies y encerradas en una sustancia polimérica extracelular (EPS). El EPS consiste esencialmente en agua, pero también en proteínas, polisacáridos, ADN extracelular y otros componentes. Los metales policatiónicos, como el calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), también están presentes y juegan un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad, la arquitectura, la viscosidad y la resistencia de la biopelículas. (*Coates D, Death et al., 1982*)

Su actividad antimicrobiana es de tipo de membrana activa, utilizado para describir un agente antimicrobiano que daña la membrana interna (citoplasmática). (Jones *et al.*, 1997)

#### 4.1.4 PROPIEDADES DE UN AGENTE IRRIGANTE

Es importante, antes de conocer los agentes que se emplean para la irrigación del sistema de conductos radiculares, que se establezcan primeramente los objetivos de su uso en general, dentro de cada fase del tratamiento, sus propiedades ideales y su clasificación dentro de los diversos materiales de desinfección del espacio pulpar. (Basrani and Cañete, *et al.*,2007)

##### **Características ideales de un agente irrigante:**

- Bactericida o bacteriostático
- Baja toxicidad y estimulante de la reparación de los tejidos perirradiculares
- Solvente de tejidos o residuos orgánicos e inorgánicos
- Baja tensión superficial
- Eliminar la capa de desecho dentinario
- Lubricante
- Acción rápida y sostenida
- Soluble en agua
- Incoloro
- Inodoro y sabor neutro
- Aplicación simple
- NO corrosivo
- Mecanismo de dosificación simple
- Tiempo de vida útil adecuado
- Fácil almacenaje

Durante la preparación biomecánica, luego de instrumentar las paredes del conducto se forma la capa de desecho, que está compuesta de depósitos de partículas orgánicas e inorgánicas de tejido calcificado aunado a diversos elementos orgánicos como tejido pulpar desbridado, procesos odontoblásticos, microorganismos y células sanguíneas compactadas al interior de los túbulos dentinarios. Esa capa de desecho puede llegar obturar parte del conducto y ser a su vez una fuente de reinfección del conducto radicular. (Hülsman *et al.*.,2000)

La solución irrigadora tiene como efecto principal actuar como lubricante y agente de limpieza durante la preparación biomecánica, removiendo microorganismos, productos asociados de degeneración tisular y restos orgánicos e inorgánicos, lo que impide la acumulación de los mismos en el tercio apical, garantizando la eliminación de dentina contaminada y la permeabilidad del conducto desde el orificio coronario hasta el agujero Apical. (Hülsman *et al.*, 2000)

La desinfección inadecuada es que los irrigantes como el hipoclorito de sodio y la clorhexidina son excelentes desinfectantes de superficies que no penetran completamente en las placas de biopelícula. ( Almeida *et al.* , 2016)

#### 5.4.1 MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD ENDODÓNTICA

Los microorganismos aislados con mayor frecuencia incluyen bacterias anaerobias. Entre los géneros bacterianos más comúnmente encontrados son *Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Dialister*, *Streptococcus*, *Treponema* y *Enterococcus* (Siqueira *et al.*, 2013)

El clásico estudio publicado de Kakehashi *et al.*, demuestra que las bacterias son la causa de la enfermedad pulpar y perirradicular. (Kakehashi *et al.*, 1965)

Los microorganismos poseen numerosos factores de virulencia, entre los que se incluyen capsulas bacterianas, fimbrias, lipopolisacáridos, enzimas, vesículas extracelulares, ácidos grasos, poliamidas, amoniaco y sulfuros de hidrógeno (Odell *et al.*, 1999).

#### 5.4.2 *Fusobacterium nucleatum*

Se ha descubierto desde hace mucho tiempo que *Fusobacterium nucleatum* causa infecciones oportunistas y recientemente se ha relacionado con el cáncer; miembro común de la microbiota oral y puede tener una relación simbiótica con sus huéspedes. Para abordar esta disonancia, exploramos la diversidad y los nichos de las fusobacterias y reconsideramos la taxonomía histórica de las fusobacterias en el contexto de la tecnología actual. (Brennan *et al.*, 2019)

#### 5.4.3 *Enterococcus faecalis*

*Enterococcus faecalis* es una bacteria Gram-positiva comensal, que habita el tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos. Como otras especies del género *Enterococcus*, *faecalis* puede causar infecciones comprometidas en humanos, especialmente en ambiente de hospital. La existencia de enterococos se potencia porque ha tenido la habilidad de adquirir resistencia a virtualmente todos los antibióticos en uso. (Ryan and Ray , 2004)

## 5. Métodos

### 5.1 Colecta de especímenes dentales y protocolo posextracción

Se realizara la colecta de dientes recién extraídos (16 órganos dentales ) con los criterios de inclusión que marca este protocolo de investigación tales como Criterios de selección: Piezas dentales extraídas por motivos de enfermedad periodontal, Piezas dentales extraídas por enfermedad periodontal, Piezas dentales extraídas por no poder pagar una tratamiento endodotal ,Piezas dentales extraídas, con lesión periapical o de furca, Piezas dentales con necrosis pulpar, cada pieza dental llevara un:

Protocolo Posextracción será el siguiente:

1. Tomar el diente extraído con guantes estériles, previamente con la autorización del Encargado de la Clínica de Exodoncia y el paciente.
2. Lavar suavemente el diente en etanol al 70 %, sumergiéndolo dentro del tubo I durante 30 segundos
3. Lavar suavemente el diente en solución PBS1X + ANTIBIÓTICO-ANTIMICÓTICO, sumergirlo en el 2do tubo durante 10 minutos
4. Sumergir el diente tubo III, tapar y sellar el tubo con Cinta testigo para esterilización en vapor o presión
5. Colocar el tubo III a temperatura 4° (refrigerador)
6. Enviar al laboratorio dentro de las Primeras 24 horas



Figura 1.



Figura. 2.

En la clínica de Cirugía de la Facultad de Odontología UANL, con previa autorización de dirección general, cada diente donado cuenta con previo consentimiento informado del, para el estudio Efecto antimicrobiano de el EDTA contra *F. nucleatum* y *E. faecalis* (estudio in vitro).

### 5.2 Preparacion de los Órganos dentarios

- 63 piezas humanas extraídas se realiza seccionó la corona en la unión amelocementaria, 3 grupos 21 órganos dentarios cada uno.

- Se cortó la corona clínica

- Se instrumentaron mas no se terminó dicha instrumentación

- Esterilizaron posteriormente los órganos dentales así creando un tubo

Eppendorf natural

- Se infectaron con cada bacteria asignada con una incubación de 24 horas a 35.7C°



Figura 3

- Posterior se termina la Instrumentación rotatoria de cada uno de los conductos con limas rotatorias Wave One Gold, apoyada de una lima Proglider, el motor usado para el uso de limas fue X-Smart Plus Motor Endodoncia Dentsply Sirona

Entre cada irrigante se realizó una irrigación de agua estéril para no afectar la función de cada uno de los irrigantes utilizados

- Al terminar las endodoncias se colocaron en agua estéril en cada conducto radicular trabajado, se secó dicha agua con puntas de papel estériles, las puntas apoyaron a tomar de muestra un triplicado de muestras cada órgano dentario colocada en tubos tipo Eppendorf estériles que contenían tripticaseína, se colocaron los tubos que contenían ya las puntas con la muestra tomada en una incubadora a 35.7C°

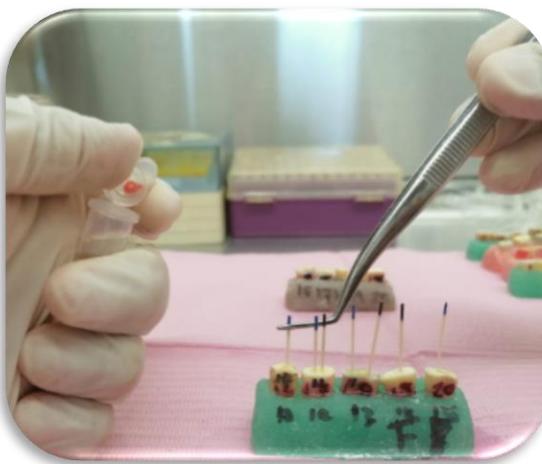


Figura .4

- Se tomó lectura bacteriana a las 24 horas y a los 7 días



Figura .5

- IRRIGANTES:

1.- Agua estéril (control)

2.- NaOCl 5.25%

3.- NaOCl 5.25 % + Agua estéril + EDTA 17% (Líquido)

4.- NaOCl 5.25 % + Agua estéril +EDTA 17% (Líquido) +EDTA 19% (gel)

5.- NaOCl 5.25 % + Agua estéril + EDTA 17% (Líquido) +CHX 2.0% (gel)

1er Gpo: Infectado de *E. feacalis*

2do Gpo: Infectado de *F. nucleatum*

3er Gpo: Infectado (Mixto) *F.nucleatum* y *E. feacalis*

### 5.3 Activación de cepas

El tiempo el cual las bacterias estuvieron guardadas en la incubadora, al realizar una lectura bacteriana, estas son activadas con agua estéril, para volverlas más jóvenes y así se puedan multiplicar mejorando su habita, se inocula de cada bacteria 1.17 DO- C 68.38

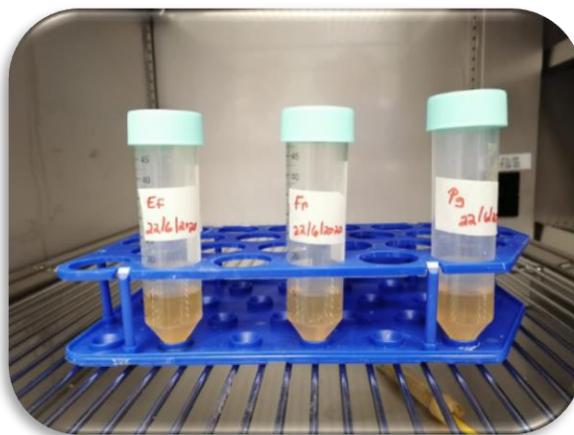


Figura. 6

#### 5.4 Elaboración de mezcla bacteriana y toma de muestra

1. Al confirmar el óptimo crecimiento de las cepas se tomaron 1000 $\mu$ l de cada tubo que contenía las bacterias reactivas y se colocaron en un solo tubo de ensaye que contenía Previamente 5000 $\mu$ l de caldo de tripticaseína de soya para realizar la mezcla de las 2 cepas bacterianas, obteniendo un volumen total de 10,000 $\mu$ l, simulando las condiciones Clínicas dado que en medio oral se encuentran viviendo como unas comunidades ecológicas y no aisladas.
2. Se dividen en 3 grupos (16 c/u), se colocan en gradillas individuales de acrílico para facilitar su manejo dentro de la Cámara de Anaerobiosis.
3. Ya comprobada la esterilización de los especímenes dentarios y cultivada la mezcla de las bacterias mencionadas.
4. Ya comprobada la esterilización de los especímenes dentarios y se cultiva la muestra bacteriana que se realizó con una Micropipeta Eppendorf, BACTERIA CANTIDAD (1.17 DO) de cada bacteria , se retiró lentamente del conducto y se sella la entrada del conducto con plástico para emplear reforzada con cinta testigo estéril
5. REFRI- INCUBADORA 36.7°

6. Se terminó la instrumentación y se irrigó con la solución de cada Gpo, los porta Eppendorf estaban totalmente empleadas conservando las para el conteo de las 24 hrs y 7 días
7. Se realizó el 1er conteo bacteriano a las 24 hrs y a los 7 días

#### Soluciones irrigantes:

- 1.- Agua estéril (control)
- 2.- NaOCl
- 3.- NaOCl 5.25 % + Agua estéril + EDTA 17% (Líquido),
- 4.- NaOCl 5.25 % + Agua estéril + EDTA 17% (Líquido) + EDTA 19% (gel)
- 5.- NaOCl 5.25 % + Agua estéril + EDTA 17% (Líquido) + CHX 2.0% (gel)

**1er Gpo:** Infectado de *E. feacalis*

**2do Gpo:** Infectado de *F. nucleatum*

**3er Gpo:** Infectado (Mixto) *F. nucleatum* y *E. feacalis*

#### 5.5 Conteo Bacteriano

Se realizó las lecturas a las primeras 24 horas y hasta los 7 días, cada lapso de tiempo se dejó en la incubadora estando las muestras selladas y empleadas, se tomó las lecturas con un Espectómetro DO 600 (BIO-RAD-SmartPec Plus), de cada tubo se toma una cantidad de cada tubo junto, con agua estéril en un recipiente se coloca en la celdilla nueva y se hace el conteo bacteriano individual muestra por muestra.

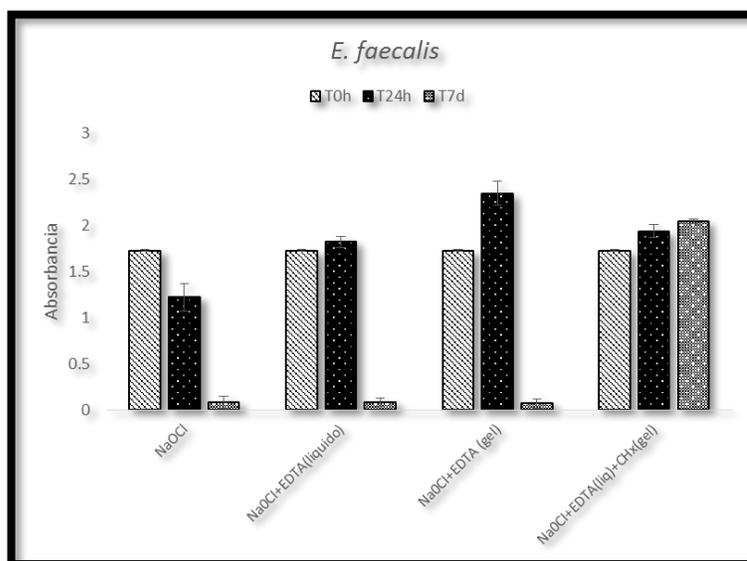


Figura. 7

## 6. Resultados

### EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EDTA CONTRA *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis*

**6.1 Efecto Antimicrobiano *E. faecalis*** a las 24 horas y 7 días, la gráfica 1 mostro a las 24 hrs, el irrigante a sobresalir fue el EDTA, presento un mayor efecto antimicrobiano desde las primeras horas.



Grafica. 1 Porcentaje del Efecto antimicrobiano después de la incubación durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d, dando como resultado casi similar un crecimiento bacteriano el NaOCl+EDTA (liquido) 0.085 Abs y NaOCl+EDTA (gel) 0.071 Abs, siendo estos los resultados mas bajos en el crecimiento de bacterias en los 3 tiempos.

Multiple Comparisons						
Dependent Variable:	Fold change					
Tukey HSD						
I) Tratamientos		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NaOCl	NaOCl+EDTA (liquido)	-.34333 <sup>*</sup>	0.05223	0.001	-0.5106	-0.1761
	NaOCl+EDTA (gel)	-.65000 <sup>*</sup>	0.05223	0.000	-0.8173	-0.4827
	NaOCl+EDTA(liq)+CHx (gel)	-.41333 <sup>*</sup>	0.05223	0.000	-0.5806	-0.2461
NaOCl+EDTA (liquido)	NaOCl	.34333 <sup>*</sup>	0.05223	0.001	0.1761	0.5106
	NaOCl+EDTA (gel)	-.30667 <sup>*</sup>	0.05223	0.002	-0.4739	-0.1394
	NaOCl+EDTA(liq)+CHx (gel)	-0.07000	0.05223	0.565	-0.2373	0.0973
NaOCl+EDTA (gel)	NaOCl	.65000 <sup>*</sup>	0.05223	0.000	0.4827	0.8173
	NaOCl+EDTA (liquido)	.30667 <sup>*</sup>	0.05223	0.002	0.1394	0.4739
	NaOCl+EDTA(liq)+CHx (gel)	.23667 <sup>*</sup>	0.05223	0.008	0.0694	0.4039
NaOCl+EDTA(liq)+CHx (gel)	NaOCl	-.41333 <sup>*</sup>	0.05223	0.000	0.2461	0.5806
	NaOCl+EDTA (liquido)	0.07000	0.05223	0.565	-0.0973	0.2373
	NaOCl+EDTA (gel)	-.23667 <sup>*</sup>	0.05223	0.008	-0.4039	-0.0694

Cuadro 2. Comparaciones Múltiples de *E. faecalis* en T24 , se aprecia la diferencia media es significativa del 0,05, con intervalo de confianza del 95%.

## Multiple Comparisons

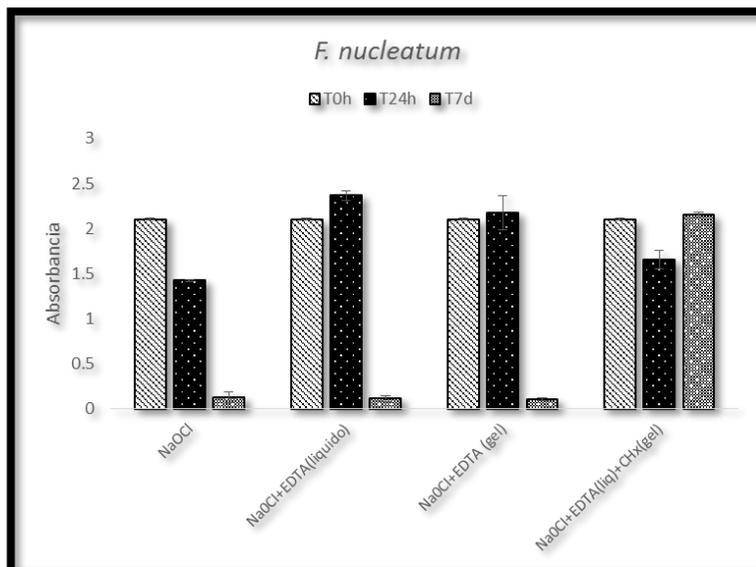
Dependent Variable:  
Tukey HSD

Fold change

(I) Tratamientos		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NaOCl	NaOCl+EDTA (líquido)	0.00200	0.01709	0.999	-0.0469	0.0509
	NaOCl+EDTA (gel)	0.00800	0.01709	0.965	-0.0409	0.0569
	NaOCl+EDTA(liq)+CHx (gel)	-1.13400 <sup>*</sup>	0.01709	0.000	-1.1829	-1.0851
NaOCl+EDTA (líquido)	NaOCl	-0.00200	0.01709	0.999	-0.0509	0.0469
	NaOCl+EDTA (gel)	0.00600	0.01709	0.985	-0.0429	0.0549
	NaOCl+EDTA(liq)+CHx (gel)	-1.13600 <sup>*</sup>	0.01709	0.000	-1.1849	-1.0871
NaOCl+EDTA (gel)	NaOCl	-0.00800	0.01709	0.965	-0.0569	0.0409
	NaOCl+EDTA (líquido)	-0.00600	0.01709	0.985	-0.0549	0.0429
	NaOCl+EDTA(liq)+CHx (gel)	-1.14200 <sup>*</sup>	0.01709	0.000	-1.1909	-1.0931
NaOCl+EDTA(liq)+CHx (gel)	NaOCl	1.13400 <sup>*</sup>	0.01709	0.000	1.0851	1.1829
	NaOCl+EDTA (líquido)	1.13600 <sup>*</sup>	0.01709	0.000	1.0871	1.1849
	NaOCl+EDTA (gel)	1.14200 <sup>*</sup>	0.01709	0.000	1.0931	1.1909

Cuadro 2. Comparaciones Múltiples en T7 cultivo *E. faecalis* se aprecia la diferencia media es significativa del 0,05, con intervalo de confianza del 95%.

## 6.2 *F. nucleatum*



Grafica. 2: Porcentaje del Efecto antimicrobiano después de la incubación durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d, dando como resultado casi similar un crecimiento bacteriano el NaOCl+EDTA (líquido) 0.110 Abs y NaOCl+EDTA (gel) 0.106 Abs, siendo estos los resultados más bajos en el crecimiento de bacterias en los 3 tiempos.

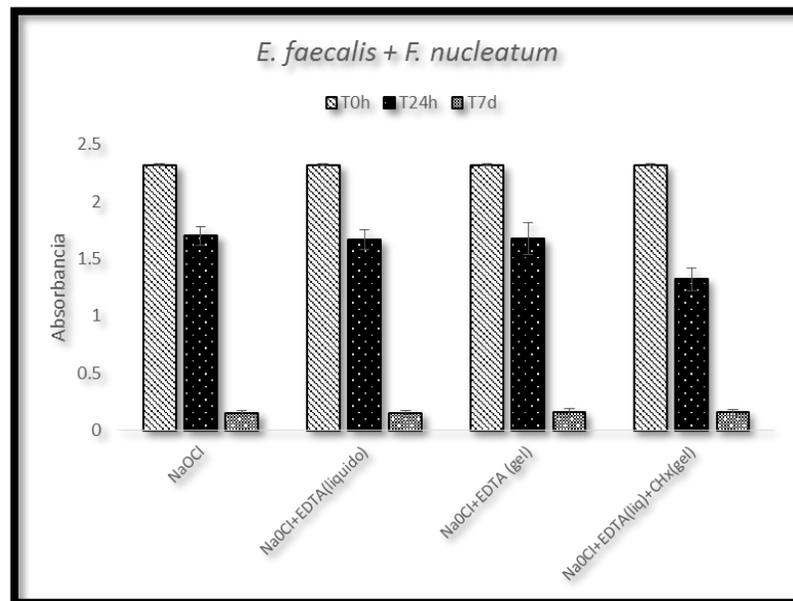
		Multiple Comparisons				
Dependent Variable:		Fold change				
Tukey HSD						
(I) Tratamientos		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NaOCl	NaOCl+EDTA (líquido)	-.45250*	0.04204	0.000	-0.5871	-0.3179
	NaOCl+EDTA (gel)	-.36000*	0.04854	0.000	-0.5154	-0.2046
	NaOCl+EDTA(líq)+CHx (gel)	-0.11250	0.04204	0.105	-0.2471	0.0221
NaOCl+EDTA (líquido)	NaOCl	.45250*	0.04204	0.000	0.3179	0.5871
	NaOCl+EDTA (gel)	0.09250	0.04204	0.203	-0.0421	0.2271
	NaOCl+EDTA(líq)+CHx (gel)	.34000*	0.03432	0.000	0.2301	0.4499
NaOCl+EDTA (gel)	NaOCl	.36000*	0.04854	0.000	0.2046	0.5154
	NaOCl+EDTA (líquido)	-0.09250	0.04204	0.203	-0.2271	0.0421
	NaOCl+EDTA(líq)+CHx (gel)	.24750*	0.04204	0.002	0.1129	0.3821
NaOCl+EDTA(líq)+CHx (gel)	NaOCl	0.11250	0.04204	0.105	-0.0221	0.2471
	NaOCl+EDTA (líquido)	-.34000*	0.03432	0.000	-0.4499	-0.2301
	NaOCl+EDTA (gel)	-.24750*	0.04204	0.002	-0.3821	-0.1129

Cuadro 3. Comparaciones Múltiples de *F. nucleatum* en T24 , se aprecia la diferencia media es significativa del 0,05, con intervalo de confianza del 95%.

Multiple Comparisons						
Dependent Variable:		Fold change				
Tukey HSD						
(I) Tratamientos		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NaOCl	NaOCl+EDTA (líquido)	0.00800	0.01095	0.884	-0.0233	0.0393
	NaOCl+EDTA (gel)	0.01000	0.01095	0.798	-0.0213	0.0413
	NaOCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	-.96400 <sup>*</sup>	0.01095	0.000	-0.9953	-0.9327
NaOCl+EDTA (líquido)	NaOCl	-0.00800	0.01095	0.884	-0.0393	0.0233
	NaOCl+EDTA (gel)	0.00200	0.01095	0.998	-0.0293	0.0333
	NaOCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	-.97200 <sup>*</sup>	0.01095	0.000	-1.0033	-0.9407
NaOCl+EDTA (gel)	NaOCl	-0.01000	0.01095	0.798	-0.0413	0.0213
	NaOCl+EDTA (líquido)	-0.00200	0.01095	0.998	-0.0333	0.0293
	NaOCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	-.97400 <sup>*</sup>	0.01095	0.000	-1.0053	-0.9427
NaOCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	NaOCl	.96400 <sup>*</sup>	0.01095	0.000	0.9327	0.9953
	NaOCl+EDTA (líquido)	.97200 <sup>*</sup>	0.01095	0.000	0.9407	1.0033
	NaOCl+EDTA (gel)	.97400 <sup>*</sup>	0.01095	0.000	0.9427	1.0053

Cuadro 4. Comparaciones Múltiples en T7 cultivo *F. nucleatum* se aprecia la diferencia media es significativa del 0,05, con intervalo de confianza del 95%.

### 6.3 (Mixto) *F. nucleatum* y *E. faecalis*



Gráfica 3. (Mixto) Porcentaje del Efecto antimicrobiano después de la incubación durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d, dando como resultado casi similar un crecimiento bacteriano el NaOCl+EDTA (líquido) 0.148 Abs y NaOCl 0.146 Abs, siendo estos los resultados más bajos en el crecimiento de bacterias en los 3 tiempos.

Dependent Variable:		Fold change				
Tukey HSD						
(I) Tratamientos		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NaOCl	NaOCl+EDTA (líquido)	0.01250	0.03080	0.976	-0.0802	0.1052
	NaOCl+EDTA (gel)	0.01250	0.03080	0.976	-0.0802	0.1052
	NaOCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	.16250 <sup>†</sup>	0.03327	0.002	0.0624	0.2626
NaOCl+EDTA (líquido)	NaOCl	-0.01250	0.03080	0.976	-0.1052	0.0802
	NaOCl+EDTA (gel)	0.00000	0.03080	1.000	-0.0927	0.0927
	NaOCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	.15000 <sup>†</sup>	0.03327	0.004	0.0499	0.2501
NaOCl+EDTA (gel)	NaOCl	-0.01250	0.03080	0.976	-0.1052	0.0802
	NaOCl+EDTA (líquido)	0.00000	0.03080	1.000	-0.0927	0.0927
	NaOCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	.15000 <sup>†</sup>	0.03327	0.004	0.0499	0.2501
NaOCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	NaOCl	-.16250 <sup>†</sup>	0.03327	0.002	-0.2626	-0.0624
	NaOCl+EDTA (líquido)	-.15000 <sup>†</sup>	0.03327	0.004	-0.2501	-0.0499
	NaOCl+EDTA (gel)	-.15000 <sup>†</sup>	0.03327	0.004	-0.2501	-0.0499

Cuadro 5. Comparaciones Múltiples (Mixto) *F. nucleatum* y *E. faecalis* en T24, se aprecia la diferencia media es significativa del 0,05, con intervalo de confianza del 95%.

Multiple Comparisons						
Dependent Variable:		Fold change				
Tukey HSD						
(I) Tratamientos		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Bound	Bound
NaCl	NaCl+EDTA (líquido)	-0.00200	0.00768	0.994	-0.0240	0.0200
	NaCl+EDTA (gel)	-0.00600	0.00768	0.862	-0.0280	0.0160
	NaCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	-0.00600	0.00768	0.862	-0.0280	0.0160
NaCl+EDTA (líquido)	NaCl	0.00200	0.00768	0.994	-0.0200	0.0240
	NaCl+EDTA (gel)	-0.00400	0.00768	0.953	-0.0260	0.0180
	NaCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	-0.00400	0.00768	0.953	-0.0260	0.0180
NaCl+EDTA (gel)	NaCl	0.00600	0.00768	0.862	-0.0160	0.0280
	NaCl+EDTA (líquido)	0.00400	0.00768	0.953	-0.0180	0.0260
	NaCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	0.00000	0.00768	1.000	-0.0220	0.0220
NaCl+EDTA(líquido)+CHx (gel)	NaCl	0.00600	0.00768	0.862	-0.0160	0.0280
	NaCl+EDTA (líquido)	0.00400	0.00768	0.953	-0.0180	0.0260
	NaCl+EDTA (gel)	0.00000	0.00768	1.000	-0.0220	0.0220

Cuadro 6. Comparaciones Múltiples (**Mixto**), en T7 cultivo se aprecia la diferencia media es significativa del 0,05, con intervalo de confianza del 95%.

## 7. Discusión

El objetivo del tratamiento de endodoncia es el completo desbridamiento del sistema de conductos para eliminar todas las bacterias, productos microbianos y tejido desbridado. (Evanov C., *et al*, 2004), tal y como se realizó en la instrumentación de los 3 grupos, *F. nucleatum* y *E. faecalis* de manera independiente y el tercer grupo mixto con ambas bacterias.

EDTA es un agente quelante, tiene las posibilidades químicas de con iones metálicos, soluble en agua para usos diversos, se recomienda como parte de los protocolos de riego endodóntico. Su acción principal es eliminar la capa de frotis para mejorar la penetración de otros Irrigantes debido a su acción quelante, la actividad antifúngica de EDTA se atribuye a su capacidad para disminuir la actividad metabólica mediante la extracción de iones de calcio de la pared celular, pero también por sus propiedades antifúngica y su capacidad para inhibir el crecimiento Microbiano después del tratamiento dental, el EDTA en combinación con el NaOCI en este estudio presento un buen efecto antimicrobiano el recrecimiento después del tratamiento , por ejemplo el Porcentaje del Efecto antimicrobiano después de la incubación durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d, dando como resultado casi similar un crecimiento bacteriano el NaOCI+EDTA (liquido) 0.085 Abs y NaOCI+EDTA (gel) 0.071 Abs, siendo estos los resultados más bajos en el ccrecieminto de bacterias en los 3 tiempos similar al de (Alshanta *et al.*, 2019).

El uso de este irrigante exhibió un rendimiento que apoyo la eliminar la capa de frotis y la alteración de la componente inorgánico, pero NaOCI asociado con EDTA liquido mostró un mejor rendimiento en la eliminación de la capa de frotis en los tratamientos endodónticos, apoyado de un irrigante extra de agua estéril llamado como in inter irrigante antes de usar uno del otro, evitando que al combinarse bajen su función antimicrobiana, los resultados fueron sobresalientes fue el EDTA, como lo hicieron en el estudio de (Haapasalo *et al.* , 2014)

Estudios realizados por (White *et al.*, 1997) menciona que la clorhexidina es un compuesto antibacteriano, como irrigante endodóntico es utilizado al 0,12% o 2%, posee excelentes propiedades antibacterianas como el hipoclorito de sodio al 5,25% e incluso tiene mejor efecto residual que el hipoclorito de sodio a las 24 horas, pero no tiene la capacidad de disolver tejido pulpar, nuestros resultados fueron similares arrojaron un buen efecto antimicrobiano, pero fue el grupo más bajo comparado con los Irrigantes NaOCl y el EDTA, durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d con *F. nucleatum*, dando como resultado un crecimiento bacteriano el NaOCl+EDTA (liquido) 0.0.110 Abs resultado más alto y comparándolo con NaOCl+EDTA (liq)+CHx) 2.152 Abs, siendo este el más bajos en el crecimiento de bacterias en los 3 tiempos, confirmando que si causo un buen efecto bacteriano mas no el mejor.

Para tener una mejor artesa que ningún instrumento rotario causara alguna alteración en el estudio se optó por utilizar WaveOne Gold (WOG), conociendo de antemano que las soluciones utilizadas como el NaOCl y EDTA no tendrían efecto sobre los resultados finales del investigación realizada, similar a lo que dijo (Uslu *et al.*, 2018)

Apoyando la teoría (Haapasalo *et al.* 2014) el hipoclorito de sodio de alta concentración (NaOCl) tiene un mejor efecto que las soluciones al 1 y 2%. Se necesita ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como enjuague final para eliminar la capa de frotis. Se puede utilizar agua estéril o solución salina entre estos dos irrigantes, para que así obtengamos, un buen Porcentaje del Efecto antimicrobiano (mixto- *F. nucleatum* y *E. faecalis* o bacterias independientes) después de la incubación durante las primeras en las T0h, T24 Y T7d en las bacterias (mixto- *F. nucleatum* y *E. faecalis*) dio como resultado similar un crecimiento bacteriano el NaOCl+EDTA (liquido) 0.148 Abs y NaOCl 0.146 Abs, siendo estos los resultados más bajos en el crecimiento de bacterias en los 3 tiempos dando un resultado positivo en su efectividad antimicrobiana y longitudinal.

## 8. Conclusiones

De acuerdo a la metodología utilizada que se realizó en la presente investigación, demuestra que el EDTA al 17% comparado con los otros grupos de irrigantes utilizado como comparativo para reducir la cantidad de bacterias inoculadas en los órganos dentarios y así conocer el mejor efecto antimicrobiano .

El EDTA irrigante fue el más sobresaliente , presento un efecto antimicrobiano desde las primeras horas, con la combinación de ambas bacterias en un grupo mixto e independiente con cada bacteria *F. nucleatum* y *E. faecalis* a las 24 horas 7 días registrando un menor crecimiento bacteriano.

El grupo de EDTA *F. nucleatum* y *E. faecalis* fueron los microorganismo más resistente en ambas bacterias de forma mixta o individual. No hubo diferencia estadísticamente significativa al inhibir la presencia bacteriana.

El análisis estadístico demostró que la eliminación de bacterias de los irrigantes utilizados de mayor a menor fue el siguiente: EDTA 17 %, NaOCl al 5.25%, Clorhexidina 2 %, agua esteril.

### **Recomendaciones**

Desarrollar un modelo de Biopelícula y demostrar su efecto sobre este modelo, aplicando las combinaciones de Irrigantes, todos arrojaron un resultado positivo, el orden de recomendación es el siguiente:

- NaOCl 5.25 % + Agua estéril + EDTA 17% (Líquido),
- NaOCl 5.25 % + Agua estéril + EDTA 17% (Líquido) + EDTA 19% (gel)
- NaOCl
- NaOCl 5.25 % + Agua estéril + EDTA 17% (Líquido) + CHX 2.0% (gel)

## 8. LITERATURA CITADA

1. Abuhaimed TS, Abou Neel EA. Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. *Biomed Res Int.* 2017;1930360
2. Almeida J, Hoogenkamp M, Felipe WT, Crielaard W, van der Waal SV. Effectiveness of EDTA and Modified Salt Solution to Detach and Kill Cells from *Enterococcus faecalis* Biofilm. *J Endod.* 2016 Feb;42(2):320-3.
3. Alshanta OA, Shaban S, Nile CJ, McLean W, Ramage G. *Candida albicans* Biofilm Heterogeneity and Tolerance of Clinical Isolates: Implications for Secondary Endodontic Infections. *Antibiotics (Basel).* 2019 Oct 30;8(4):204.
4. Arias-Moliz MT, Morago A, Ordinola-Zapata R, Ferrer-Luque CM, Ruiz-Linares M, Baca P. Effects of Dentin Debris on the Antimicrobial Properties of Sodium Hypochlorite and Etidronic Acid. *J Endod.* 2016 May;42(5):771-5
5. Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod.* 1975 Apr;1(4):127-35
6. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod.* 2007 Aug; 33(8):966-9.
7. Baumgartner JC, Siqueira JF, Xia T, Rocas IN. "Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction". *J Endod* 2004 Mar, 30 (3): 141-4
8. Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum* - symbiont, opportunist and oncobacterium. *Nat Rev Microbiol.* 2019 Mar;17(3):156-166
9. Cardoso LR, Baldasso FER, Delai D, Montagner F, Kopper PMP. Effect of EDTA, sodium, and calcium hypochlorite on the inorganic component of root canal dentin: A SEM analysis. *Microsc Res Tech.* 2019 Feb;82(2):128-133.
10. Coates D, Death JE. Use of buffered hypochlorite solution for disinfecting fibrescopes. *J Clin Pathol.* 1982 Mar;35(3):296-303.
11. Cohen S, Hargreaves, KM. *Pathways of the pulp.* 10th ed. St. Louis, MO: CV Mosby Company; 2011
12. Dakin HD. On the use of certain antiseptic substances in the treatment of infected wounds. *Br Med J.* 1915. Aug 28; 2(2852):318-20

13. Dal Bello Y, Mezzalana GI, Jaguszewski LA, Hoffmann IP, Menchik VHS, Cecchin D, Souza MA. Effectiveness of calcium and sodium hypochlorite in association with reciprocating instrumentation on decontamination of root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Aust Endod J*. 2019 Apr;45(1):92-97
14. Estevez R, Conde AJ, Valencia de Pablo O, de la Torre F, Rossi-Fedele G, Cisneros R. Effect of Passive Ultrasonic Activation on Organic Tissue Dissolution from Simulated Grooves in Root Canals Using Sodium Hypochlorite with or without Surfactants and EDTA. *J Endod*. 2017 Jul;43(7):1161-1165
15. Evanov C, Liewehr F, Buxton TB, Joyce AP. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate irrigants at 37 degrees C and 46 degrees C. *J Endod*. 2004 Sep;30(9):653-7.
16. Goldman M, White RR, Moser CR, Tenca JJ. A comparison of three methods of cleaning and shaping the root canal in vitro. *J Endod*. 1998 14(1):7-12
17. Grossman LI, Meiman BW. Solution of pulp tissue by chemical agents. *J Am Dent Assoc*. 1941. 2:223-225.
18. Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod*. 2007 Aug;33(8):917-25
19. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J*. 2014 Mar;216(6):299-303.
20. Hülsmann M, Hahn W. Complication during root canal irrigation- literature review and case reports. *Int. Endod. J*. 2000 May; 33(3):186-93.
21. Hülsmann M. Irrigación del conducto radicular: objetivos, soluciones y técnicas. 1998. *J. Endodon Pract*. Edición en español. 4(1) pp: 15-29
22. Ingle JJ, Bakland LK. *Endodoncia*. 2004. 5ta. Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. pp. 505-516
23. Ingle JJ and Berveridge E. *Endodoncia*. 1979. 2da. Edición. Editorial Interamericana. México, pp. 169-173
24. Jacinto RC, Montagner F, Signoretti FG, Almeida GC, Gomes BP. Frequency, microbial interactions, and antimicrobial susceptibility of *Fusobacterium nucleatum* and *Fusobacterium necrophorum* isolated from primary endodontic infections. *J Endod*. 2008 Dec;34(12):1451-6.
25. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 1997 Oct;15:55-62..

26. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965; 20:340-9.
27. Krishnan U, Saji S, Clarkson R, Lalloo R, Moule AJ. Free Active Chlorine in Sodium Hypochlorite Solutions Admixed with Octenidine, SmearOFF, Chlorhexidine, and EDTA. *J Endod.* 2017 Aug;43(8):1354-1359
28. Lasala A. *Endodoncia*. 4ta Edición. Editorial Salvat. México, 1915 .pp.377-381
29. Liu L, Leng S, Yue J, Lu Q, Xu W, Yi X, Huang D, Zhang L. EDTA Enhances Stromal Cell-derived Factor 1 $\alpha$ -induced Migration of Dental Pulp Cells by Up-regulating Chemokine Receptor 4 Expression. *J Endod.* 2019 May;45(5):599-605
30. Lui J-N, Kuah H-G, Chen NN. Effects of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. *J Endod* 2007; 33, 472–5
31. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod.* 1975 Jul; 1(7):238-242
32. Odell LJ, Baumgartner JC, Xia T, David LL. Survey for collagenase gene prtC in *Porphyromonas gingivalis* and *Porphyromonas endodontalis* isolated from endodontic infections *J. Endod* 1999 Aug; 25(8):555-8.
33. Östby N.. Chelation in root canal therapy. Ethylenediamine tetra-acetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odont* 1957, T 65:3-11.
34. Parsons GJ, Patterson SS, Miller CH, Katz S, Kafrawy AH, Newton CW. Uptake and release of chlorhexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980 May; 49(5):455-59.
35. Pucci FM, Reig R.. *Conductos radiculares*. 1945. Montevideo, Barreiro A y Ramos editores, 2:364.
36. Ryan KJ; Ray CG. *Sherris Medical Microbiology* (4th ed. edición). 2004. McGraw Hill.
37. Seidberg BH, Schilder H. An evaluation of EDTA in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974 Apr; 37(4):609-20.
- 38., Jr. JF, N. Rôças I. Microbiology and Treatment of Acute Apical Abscesses. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26(2):255–273.
39. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008 Nov;34(11):1291-1301.e3.

40. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5% and 5,25% sodium hypochlorite. *J. Endod.* 2000. 26(6):331-4.
41. Spångberg L, Engström B, Langeland K. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973.36:856 –71.
42. Stewart GG, Kapsimalas P, Rappaport H. EDTA and urea peroxide for root canal preparation. *J Am Dent Assoc* 1969 Feb; 78(2): 335-8.
43. Tariq, Muhammad; Yasmeen, Azra; Ahmad, Shakeel; Hussain, Nazim; Naveed Afzal, Muhammad; Hasanuzzaman, Mirza. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 2017. 20: 251 – 262
44. Taweewattanapaisan P, Jantarat J, Ounjai P, Janebodin K. The Effects of EDTA on Blood Clot in Regenerative Endodontic Procedures. *J Endod.* 2019 Mar;45(3):281-286
45. Torabinejad M, Handysides R, Ali Khademi A, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94:658–66
46. Uslu G, Özyürek T, Yılmaz K, Plotino G. Effect of Dynamic Immersion in Sodium Hypochlorite and EDTA Solutions on Cyclic Fatigue Resistance of WaveOne and WaveOne Gold Reciprocating Nickel-titanium Files. *J Endod.* 2018 May;44(5):834-837
47. Walker A. A definitive and dependable therapy for pulpless teeth. *J Am Dent Assoc* 1936. 23:1418-25.
48. White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J. Endod.* 1997 Apr; 23(4):229-31
49. Wu S, Liu Y, Zhang H, Lei L. The Susceptibility to Calcium Hydroxide Modulated by the Essential walR Gene Reveals the Role for *Enterococcus faecalis* Biofilm Aggregation. *J Endod.* 2019 Mar;45(3):295-301.e2
50. Xu J, He J, Shen Y, Zhou X, Huang D, Gao Y, Haapasalo M. Influence of Endodontic Procedure on the Adherence of *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2019 Jul;45(7):943-949
51. Yang H, Swem BL. Efecto del pH en la inactivación de bacterias patógenas en lechuga fresca cortada y tratada por inmersión en agua electrolizada. 2003. *Journal of food Science.* ppt:17-23

## RESUMEN BIOGRÁFICO

Karen Ivette Rangel Terán

Candidato para el Grado de

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia

Tesis: **EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EDTA CONTRA *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis* (ESTUDIO IN VITRO)**

**Campo de Estudio:** Ciencias de la Salud

**Datos Personales:** Nacido Matehuala, San Luis Potosí el 18 de febrero de 1993, hija de Felicitas Terán Labastida

**Educación:** Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Cirujano Dentista en 2017.

**Experiencia Profesional:**

- Asistente dental EndoGrop Matehuala , S.L.P (Temporada vacacional en pregrado)
- Asistente dental Tu punto dental Monterrey N.L 2018-2019
- Servicio social , Facultad de Odontología en la clínica de Diagnostico Mty- Nuevo León (Febrero 2018- enero 2019)

