



Utilización del ácido fosfórico como coadyuvante para la eliminación del barro dentinario en endodoncia

Romina Loiacono,* Carolina Alexia Anaise,§ María Soledad Lago,† Laura Beatriz Pinasco,‡ Ariel Gualtieri,** Pablo Alejandro Rodríguez§§

* Jefe de Trabajos Prácticos, Cátedra de Endodoncia.

§ Ayudante de primera Cátedra de Endodoncia.

† Ayudante de segunda Cátedra de Endodoncia.

‡ Profesora Adjunta Cátedra de Endodoncia.

** Profesor Adjunto Cátedra de Biofísica y Bioestadística.

§§ Profesor Titular Cátedra de Endodoncia.

Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.

RESUMEN

Introducción: La importancia de eliminar el barro dentinario (BD) de los conductillos radica en que éstos pueden alojar gran cantidad de microorganismos. La limpieza de estos espacios se logra con la utilización de agentes químicos y coadyuvantes durante la irrigación. Se ha reportado que el ácido fosfórico (H_3PO_4) elimina el BD alojado dentro de los túbulos y en las paredes del conducto radicular (CR). Pero las altas concentraciones estudiadas (entre 5 y 40%) podrían resultar nocivas para los tejidos perirradiculares. Esto puede complementarse con la utilización de sistemas de activación del irrigante, como la irrigación ultrasónica pasiva. **Objetivo:** Comparar el grado de higiene de la pared dentinaria del CR utilizando diferentes concentraciones de ácido fosfórico (AF) como coadyuvante. Adicionalmente, se analizaron los cambios respecto a la limpieza generados por la activación del coadyuvante con ultrasonido. **Material y métodos:** Se utilizaron 90 premolares inferiores humanos, los que se estandarizaron a una longitud de 18 mm. Las muestras fueron instrumentadas con el sistema ProTaper Next (Dentsply® Maillefer, Suiza) y sus accesorios hasta el instrumento X3 (punta 0.30 mm). La irrigación se realizó con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2.5% y como solución final un coadyuvante: G1 (3% AF sin activación), G2 (3% AF con activación), G3 (4% AF sin activación), G4 (3% AF con activación) y G5 (ácido etilendiaminatetraacético [EDTA] 17%). Se observaron las muestras bajo un microscopio electrónico de barrido. **Resultados:** El nivel de pulcritud radicular no dependió de la activación, sin embargo, sí se

incrementó en relación con la concentración. El grado de higiene se redujo desde coronal hacia apical, aunque las diferencias obtenidas no resultaron significativas. **Conclusión:** A modo de coadyuvante, el uso del AF al 4%, en comparación con 3%, mostró mayor calidad de limpieza de la pared dentinaria del sistema de conductos, no mostrando mejoras estadísticamente significativas con la activación mediante ultrasonido.

Palabras clave: Irrigantes, activación ultrasónica, ácido fosfórico, hipoclorito de sodio, barro dentinario.

INTRODUCCIÓN

La terapéutica endodóntica requiere de una exhaustiva preparación mecánica y química debido a la compleja anatomía del sistema de conductos radiculares (CR).¹ El control de la infección en el transcurso de la terapia endodóntica es muchas veces difícil de lograr, ya que las técnicas de instrumentación e irrigación no siempre producen una disminución suficiente de la carga bacteriana.² La preparación quirúrgica mediante el uso de instrumentos manuales o rotatorios permite conformar las paredes del CR, mientras que la química, además de remover el detritus originado por la instrumentación, tiene un rol fundamental en la desinfección del sistema.³ Varios estudios *in vitro* demostraron que la instrumentación por sí sola no es suficiente para suprimir por completo los microorganismos.⁴⁻⁷ El barro dentinario resultante de la instrumentación contiene restos orgánicos de la pulpa, dentina debridada y microorganismos, que pueden permanecer en el sistema de conductos, por lo que deben ser eliminados.⁸⁻¹¹

En 1981, Bystrom y Sundqvist demostraron que la instrumentación rotatoria reduce el número de bac-

Recibido: Junio 2019. Aceptado: Octubre 2019.

Citar como: Loiacono R, Anaise CA, Lago MS, Pinasco LB, Gualtieri A, Rodríguez PA. Utilización del ácido fosfórico como coadyuvante para la eliminación del barro dentinario en endodoncia. Rev Odont Mex. 2020; 24 (4): 243-252.

© 2020 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

terias sólo en 50%. Como consecuencia, se han empleado numerosos irrigantes a lo largo de los años persiguiendo la desinfección del CR.^{4,12-15} Actualmente, aún no se cuenta con un irrigante que reúna todas las propiedades necesarias y por eso se recurre en la práctica clínica a combinaciones de sustancias con acciones desinfectante y quelante. La solución irrigante más comúnmente utilizada en la práctica diaria es el hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones, por ser la que más se acerca a las condiciones ideales, ya que posee efectividad para eliminar tejido vital y no vital, además de su amplio efecto antibacteriano.^{8,10,16,17} Su inconveniente es que no elimina totalmente el BD generado durante la conformación mecánica, por lo que debe ser combinado con un agente coadyuvante quelante.⁸ En la actualidad, existe gran cantidad de sustancias que actúan sobre la materia inorgánica alojada dentro de los CR, por ejemplo ácido cítrico, EDTA, MTAD, AF, entre otras.^{4,8,9,18-21}

La importancia de erradicar el BD radica en que al interior de los túbulos pueden permanecer gran variedad de microorganismos, los cuales son la principal causa del fracaso del tratamiento. Es fundamental que estos espacios sean tratados en el curso de la terapia endodóntica. Debido a su localización, su pequeño tamaño y compleja anatomía interna radicular, es que la acción química se torna imprescindible para una correcta preparación del sistema de conductos.⁸⁻¹¹

El AF es utilizado principalmente en operatoria dental como ácido grabador en el esmalte y, en algunas ocasiones, en el tejido dentinario.^{9,21,22} Este ácido elimina el BD generado por las fresas al tiempo de la conformación de las preparaciones para alojar restauraciones plásticas. También se aplica en protocolos de fijación de restauraciones rígidas. En ambos casos, se utiliza en forma de geles de diferentes consistencias, al 37% durante 15 segundos en el esmalte y ocho segundos en la dentina.

La aplicación clínica del AF en endodoncia se encuentra aún en estudio. Las concentraciones evaluadas en la literatura varían entre 5 y 40% y han puesto de manifiesto que su utilización permite eliminar el BD alojado en la pared y en los túbulos en los tres tercios de los CR, dejando una superficie apta para la obturación y el sellado tridimensional.^{8,9,20,21} Pero la utilización de esta solución en concentraciones elevadas puede no ser biológicamente segura, por lo que la disminución de las concentraciones resultaría imprescindible hacia su posible utilización clínica.²³⁻²⁶

En el desarrollo de la irrigación, las soluciones pueden ser activadas mediante distintos sistemas a modo de mejorar sus propiedades.^{27,28} Estos sistemas no deben interferir con la preparación quirúrgi-

ca, es decir, no deben modificar la pared dentinaria. Los instrumentos utilizados para este fin producen vibraciones sónicas o ultrasónicas que, mediante puntas específicas, transforman la energía mecánica en energía cinética, aumentando la temperatura del irrigante, la presión hidrostática y generan un efecto de microcavitación y turbulencia dentro de las soluciones, como consecuencia, producen burbujas que chocan contra las paredes del conducto, originando ondas que remueven el BD.^{3,10,23,26-28} Existen variadas perspectivas respecto a las diferencias de limpieza de pared en aquellos casos donde se utilizan técnicas de irrigación pasiva o activa, ya sean éstas sónicas o ultrasónicas.

El objetivo de este estudio fue utilizar distintas concentraciones de ácido fosfórico en el rol de coadyuvante y comparar el grado de aseo de la pared dentinaria del CR obtenida con cada concentración. También se analizaron los cambios respecto a la limpieza generados por la activación ultrasónica del coadyuvante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dentro de esta investigación se utilizaron 90 premolares inferiores humanos. Las muestras se seleccionaron bajo los siguientes criterios de inclusión: piezas recientemente extraídas con un solo CR (verificado con radiografía periapical de frente y perfil), recta, con ápices maduros, sin caries ni restauraciones coronarias ni radiculares y con un mínimo de 18 milímetros de longitud desde el extremo apical. En aquellas piezas donde la extensión superaba 18 mm, se procedió a descartar el excedente coronario por medio de un corte horizontal realizado con un disco metálico montado en una pieza de mano neumática. Se realizó la apertura a alta velocidad con piedra redonda de diamante número dos en esmalte y con fresa de carburo número dos en dentina, ambas con abundante refrigeración acuosa. Todos los CR fueron cateterizados con una lima Dentsply® tipo K #10 de 25 mm de extensión hasta verificar su salida por el foramen apical. Luego, sin exponer el CR, con un disco metálico se realizaron marcas longitudinales en las caras libres de todas las muestras. A continuación, cada diente fue incluido en un taco de silicona (silicona por condensación Zeta Plus®, Zhermack, Italia) para evitar la pérdida de los líquidos irrigantes a través del foramen apical. Seguidamente, se instrumentaron el tercio cervical y medio con limas tipo K de acero inoxidable #15 y #20 de 25 mm de largo y se realizó la preparación de accesos con el instrumento X1 de 25 mm de extensión del sistema rotatorio ProTaper Next a 2 Ncm de torque y 300 rpm de velocidad utilizando un motor X-Smart Plus.

Se irrigaron los CR con 3 mL de NaOCl al 2.5% y se tomaron radiografías de conductometría.

La preparación quirúrgica se realizó con los instrumentos del sistema ProTaper X1 y X2, ambas de 25 mm de largo, a la longitud de trabajo empleando el mismo motor e idéntica velocidad y torque.

Durante las maniobras anteriores se irrigaron los CR con 3 mL de NaOCl al 2.5%, con aguja 20 G y jeringa plástica de 5 mL. Como último lavaje, se utilizaron 5 mL de agua destilada. La permeabilidad apical se verificó con lima tipo K #10 de 25 mm de extensión.

A continuación, las muestras fueron divididas al azar en cinco grupos y a cada uno se le aplicó un protocolo de preparación química diferente (Tabla 1).

La permanencia de la solución de AF en el conducto fue de 3 minutos. En el caso de las muestras activadas, el ultrasonido se aplicó a lo largo del último minuto. Luego del protocolo de irrigación, los CR se secaron con conos de papel estériles y se obliteraron en la corona con una torunda de teflón estéril. Cada pieza fue retirada del taco de silicona y envuelta en papel aluminio a fin de llevarla al ultracongelador a temperatura de -80 °C, a lo largo de siete días. Una vez cumplido el periodo, se retiraron de su envoltorio y se les partió en mitades mediante el uso de escoplo y martillo. A todas las hemisecciones se les realizaron tres marcas buscando delimitar los tercios, a partir del extremo apical: a 4 mm para el tercio apical, a 8 mm para el medio y a 12 mm para el tercio cervical. Las hemisecciones de cada grupo fueron colocadas en un frasco estéril y transportadas para ser sometidas al

procesamiento y ser observadas al microscopio electrónico de barrido (Philips XL 30). Se adhirieron las muestras a la platina con cianocrilato, y luego, secadas y metalizadas para su observación (paladio 60% - oro 40%, en un equipo SC7620 *mini Sputter Coater* de Quorum Technologies).

Una vez colocadas las muestras dentro del microscopio y alcanzado el voltaje (15 a 20 kV), se buscaron las marcas de cada tercio y se tomó la microfotografía. Las imágenes obtenidas se ubicaron justo en el centro del CR, al nivel de la marca realizada con anterioridad. Se tomaron seis microfotografías de cada muestra: tercio cervical, medio y apical, a 500x y 1000x.

Luego, fueron analizadas por un operador calibrado, teniendo en cuenta el criterio utilizado por Rome y colaboradores (Tabla 2).²⁹

Al momento de la toma de las microfotografías se observó macroscópicamente que la limpieza generada por el AF al 4% era visiblemente mayor a la del 3%, pero no se evidenciaban diferencias tan notorias entre sin activar (S/A) y activadas (A). Es por eso que se decidió aumentar el número de muestras en 20 por grupo (n total de cada grupo del AF 4% = 30), a fin de verificar la existencia de diferencias entre los dos protocolos.

Análisis estadístico

La descripción del puntaje (*score*) en los distintos grupos se realizó a través de mediana, número de observaciones (n), porcentaje y medidas descriptivas para los rangos asignados a las observaciones originales

Tabla 1: Diferentes protocolos de irrigación utilizados según cada grupo.
Different irrigation protocols used according to each group.

Grupo	N inicial	N total	Preparación química
1	10	30	NaOCl 2.5% 3 mL + AF 4% 3 mL sin activar + agua destilada 5 mL
2	10	30	NaOCl 2.5% 3 mL + AF 4% 3 mL activado + agua destilada 5 mL
3	10	10	NaOCl 2.5% 3 mL + AF 3% 3 mL sin activar+ agua destilada 5 mL
4	10	10	NaOCl 2.5% 3 mL + AF 3% 3 mL activado + agua destilada 5 mL
5	10	10	NaOCl 2.5% 3 mL + agua destilada 2 mL + EDTA 17% + agua destilada 5 mL

Tabla 2: Criterio de Rome y colaboradores utilizado para calificar las muestras del presente estudio.
Rome and collaborators criteria used to qualify the samples of the present study.

Puntaje	Descripción
0	Ausencia de barro dentinario (no hay barro dentinario sobre la superficie de la pared del conducto radicular, todos los túbulos estaban limpios y abiertos)
1	Mínimo barro dentinario (no hay barro dentinario sobre la superficie de la pared del conducto radicular, pero los túbulos contienen restos)
2	Moderado barro dentinario (no hay barro dentinario sobre la superficie de la pared del conducto radicular, pero los túbulos están obliterados)
3	Abundante barro dentinario (el barro dentinario cubre la superficie de la pared y los túbulos)

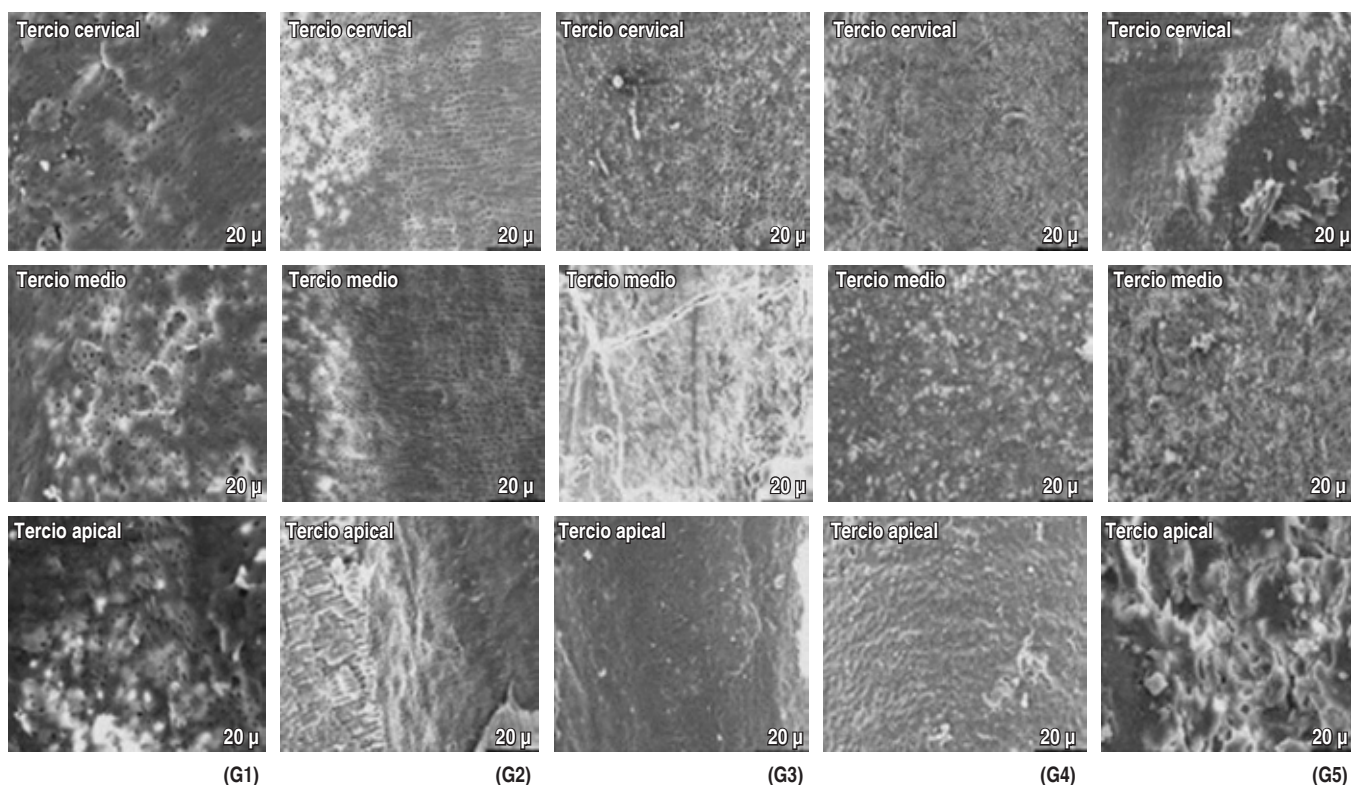


Figura 1: G1 AF 4% sin activar, G2 AF 4% activado, G3 3% sin activar, G4 3% activado, G5 EDTA 17%. En cada grupo de microfotografías, de arriba hacia abajo se observa: tercio cervical, tercio medio y tercio apical. Escala: 20 micrómetros.

G1 AF 4% unactivated, G2 AF 4% activated, G3 3% unactivated, G4 3% activated, G5 EDTA 17%. In each group of microphotographs, from top to bottom: cervical third, middle third, and apical third. Scale: 20 micrometers.

(mínimo [Mín], máximo [Máx], mediana, media). Con la meta de comparar estadísticamente la puntuación entre dos o más conjuntos, se utilizaron las pruebas de Mann-Whitney-Wilcoxon (MWW) o Kruskal-Wallis, respectivamente. Cuando la prueba de Kruskal-Wallis arrojó un resultado significativo, se realizaron comparaciones *post hoc* entre pares de agrupaciones mediante el método de Conover-Iman, con ajuste Benjamini-Hochberg de valores *p* por comparaciones múltiples. Se fijó un nivel de significación de 5%.

RESULTADOS

Las muestras de los grupos 1 y 2 mostraron mejores resultados respecto a la limpieza de la pared dentinaria. En ambos grupos, los tercios coronarios y medios mostraron ausencia total de BD. En los tercios apicales algunos especímenes tuvieron restos de barro alojados entre los túbulos, pero no en su interior (Figura 1). En las muestras del grupo 3 se observó mejor nivel de aseo de las paredes dentinarias de los CR en los tercios coronarios evaluados, con un pequeño aumento de la

cantidad de BD en los tercios medios y elevada cantidad de BD presente en los tercios apicales observados. Una situación similar se observó en el caso del grupo 4. Si bien el tercio coronario muestra una imagen de pulcritud en la pared dentinaria, a nivel de los tercios medio y apical la cantidad de BD aumenta notablemente. El grupo 5 mostró gran cúmulo de BD en los tres tercios.

Comparación del grado de limpieza del conducto radicular entre los distintos grupos: se encontró una diferencia estadísticamente significativa de puntaje entre los tratamientos comparados (prueba de Kruskal-Wallis: $p < 0.05$). Las comparaciones *post hoc* (método de Conover-Iman) arrojaron diferencias significativas de puntuación entre los grupos 1 o 2 y el resto: la valoración fue menor en los conjuntos 1 y 2 (Figura 2).

Comparación del grado de limpieza del conducto radicular entre grupos sin activar y con activación: no se encontró una diferencia significativa de la puntuación entre conjuntos sin activar y aquellos con activación (prueba MWW: $p = 0.24$) (Figura 3).

Los resultados sugieren que, dentro de los grupos comparados, el nivel de saneamiento no dependería de

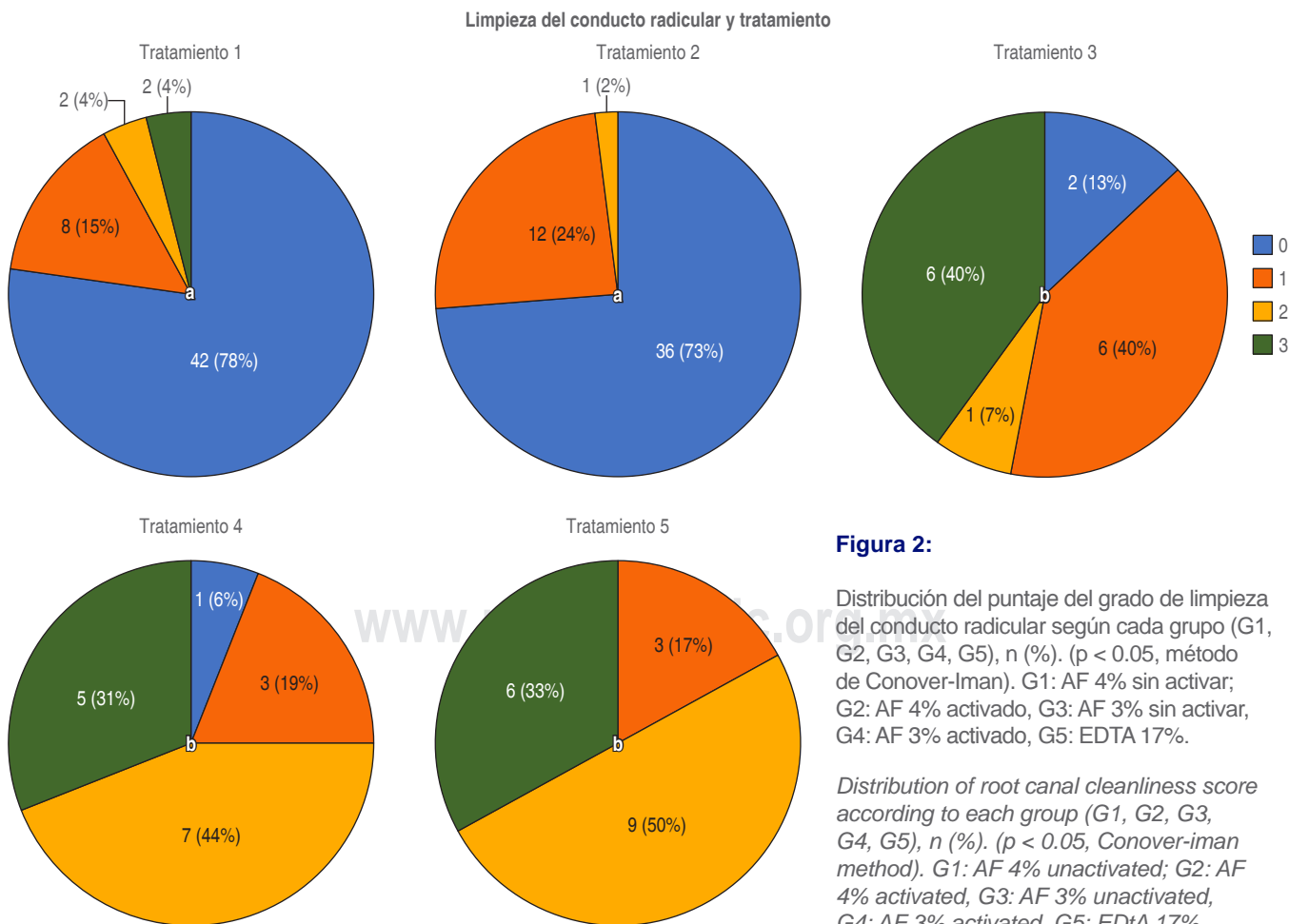
la activación, aunque se incrementaría con la concentración (mayor para la concentración 4% que para 3%). Con respecto a la comparación del estado de aseó entre los tercios del CR, se observaron diferencias entre las muestras: el grado de higiene se redujo desde coronal hacia apical; sin embargo, estas diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas.

DISCUSIÓN

El tratamiento químico del sistema de conductos tiene como objetivo facilitar la instrumentación manteniendo las paredes dentinarias hidratadas, remover los detritos y disminuir el número de bacterias existentes en la compleja anatomía de los CR. Para ello, se debe eliminar tanto la materia orgánica como la inorgánica. Existen numerosas soluciones y protocolos para tal fin. Ya en 1994, Garberoglio y colegas³⁰ observaron resultados de limpieza similares a los obtenidos en este trabajo, combinando AF al 24% y ácido cítrico al 10%, en comparación con el uso de EDTA 17% y EDTA 3%. También Prado y coautores³¹

verificaron el mejor desempeño del AF al 37% respecto al EDTA 17%, especialmente en el tercio apical.

Muchos autores relacionaron el nivel de higiene con el tiempo de permanencia de la solución al interior de los conductos radiculares. Entre ellos, Morgan y Baumgartner³² señalaron que la cantidad de BD removido está directamente relacionada con el tiempo de exposición. En su trabajo, Scelza³³ y su equipo demostraron mejores resultados de aseó luego de 3 minutos de contacto y verificaron que mantener las soluciones por más de ese tiempo no mejoraba la efectividad. En 2011, también Prado y coautores¹⁹ observaron mayor pulcritud en los tres tercios del conducto con la utilización de AF luego de 3 minutos. Con base en los citados trabajos se decidió tomar el lapso de 3 minutos como el tiempo de trabajo para este estudio. En 2013, en contraste con el criterio usado aquí, Khalighinejad y asociados²⁴ utilizaron el AF al 6% durante sólo un minuto y verificaron que fue efectivo removiendo el barro dentinario. En el caso presente se ha decidido por aumentar el tiempo de trabajo y dismi-



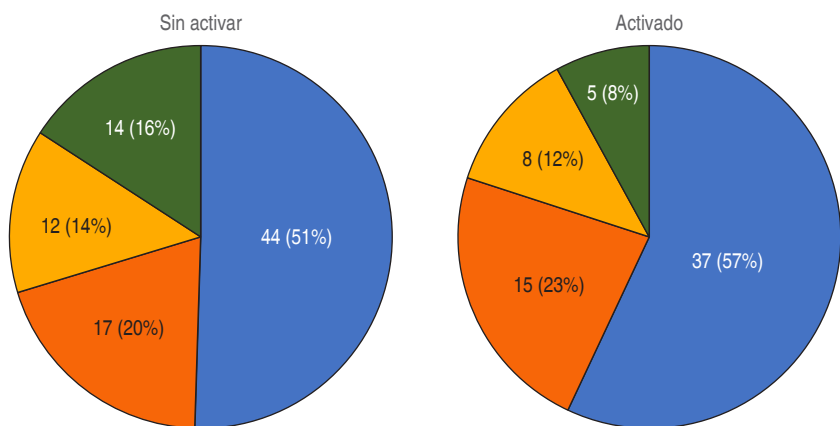


Figura 3:

Distribución de puntuación del grado de limpieza del conducto radicular según presencia de activación, n (%). Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon: $p = 0.24$.

Distribution of root canal cleanliness score according to the presence of activation, n (%). Mann-Whitney-Wilcoxon test: $p = 0.24$.

nuir la concentración pensando en el riesgo biológico que pueden generar las altas concentraciones.

Debe destacarse el riesgo de utilizar un ácido en solución a nivel del tercio apical, ya que, hasta el momento, se desconocen las consecuencias posibles sobre los tejidos periapicales. Las próximas investigaciones deberían estar centradas en la acción biológica del AF teniendo en cuenta estos resultados.

CONCLUSIÓN

El uso del ácido fosfórico como coadyuvante al 4%, en comparación con 3%, demostró mayor grado de limpieza del barro de la pared dentinaria del conducto radicular, no mostrando mejoras estadísticamente significativas al ser activado con ultrasonido.

Original research

Use of phosphoric acid as an auxiliary for the smear layer removal in endodontics

Romina Loiacono,* Carolina Alexia Anaise,[§] María Soledad Lago,[¶] Laura Beatriz Pinasco,^{||} Ariel Gualtieri,** Pablo Alejandro Rodríguez^{§§}

* Jefe de Trabajos Prácticos, Cátedra de Endodoncia.

[§] Ayudante de primera Cátedra de Endodoncia.

[¶] Ayudante de segunda Cátedra de Endodoncia.

^{||} Profesora Adjunta Cátedra de Endodoncia.

** Profesor Adjunto Cátedra de Biofísica y Bioestadística.

^{§§} Profesor Titular Cátedra de Endodoncia.

Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.

ABSTRACT

Introduction: The importance of removing the smear layer from dentinal tubules is that they can host many microorganisms. Cleaning these spaces is achieved with the use of an auxiliary

and chemical agents during irrigation. It has been reported that phosphoric acid removes the smear layer lodged inside the tubules and on the walls of the root canal. However, the high concentrations (between 5% and 40%) could be harmful to the periradicular tissues. This can be complemented using activation systems, such as passive ultrasonic irrigation. **Objective:** This study aimed to use different concentrations of phosphoric acid as an adjuvant and to compare the degree of cleaning generated by each concentration on the dentin wall of the root canal. The cleaning changes related to the ultrasonic activation of the adjuvant were also analyzed. **Material and methods:** 90 human lower premolars were used, which were standardized to a length of 18 mm. The samples were instrumented with the ProTaper Next system (Dentsply, Maillefer, Switzerland) up to the X3 instrument (0.30 mm tip). Irrigation was performed with 2.5% sodium hypochlorite (NaOCl), and an adjuvant as a final solution: G1 (3% phosphoric acid [AF] without activation), G2 (3% AF with activation), G3 (4% AF without activation), G4 (4% AF with activation) and G5 (17% EDTA). The specimens were observed at scanning electron microscope (SEM). **Results:** The degree of cleaning generated in the different groups would not depend on the adjuvant activation, but would increase with concentration. The degree of cleaning was reduced from coronal to apical, although the differences obtained were not significant. **Conclusion:** The use of phosphoric acid as an adjuvant at 4% concentration, compared to 3%, demonstrated a greater degree of cleaning of the dentin walls of the root canal system, not showing statistically significant improvements with ultrasonic activation.

Keywords: Irrigants, ultrasonic activation, phosphoric acid, sodium hypochlorite, smear layer.

INTRODUCTION

Endodontic therapy requires extensive mechanical and chemical preparation due to the complex anatomy of the root canal system.¹ Control of infection during endodontic therapy is often difficult to achieve since instrumentation and irrigation techniques do not always produce a sufficient decrease in bacterial load.² Surgical preparation using instruments, manual or rotary, allows shaping the walls of the root canal; while chemistry, in addition to removing detritus caused by instrumentation, has a fundamental role in

disinfecting the system.³ Several *in vitro* studies have shown that instrumentation alone is not enough to eliminate microorganisms.⁴⁻⁷ The smear layer resulting from the instrumentation contains organic remains of the pulp, debrided dentin, and microorganisms that can remain in the canal system and therefore, must be removed.⁸⁻¹¹

Bystrom and Sundqvist in 1981 demonstrated that rotary instrumentation reduces the number of bacteria by only 50%. Therefore, numerous irrigants have been used over the years for root canal disinfection.^{4,12-15} Currently, we still do not have an irrigant that meets all the necessary properties and in consequence in clinical practice combinations of substances with disinfecting and chelating action are used. The most commonly irrigating solution used in daily practice is sodium hypochlorite, in different concentrations, as it is the closest to ideal conditions since it has effectiveness in removing vital and non-vital tissue, in addition to its broad antibacterial effect^{8,10,16,17} but it does not remove completely the smear layer generated during mechanical shaping, so it must be combined with a chelating aid.⁸ There are currently many substances that act on the inorganic matter lodged within the root canals: citric acid, EDTA, MTAD, phosphoric acid, among others.^{4,8,9,18-21} Many of them already have clinical applications, but others are under study.

The importance of removing the smear layer is that a large number of microorganisms can remain inside the tubules, which are the main cause of treatment failure. It is indispensable that these spaces are treated during endodontic therapy. Due to its location, small size, and complex internal root anatomy, the chemical action becomes essential for the correct preparation of the canal system.⁸⁻¹¹

Phosphoric acid is mainly used in dental rehabilitation as etching acid in enamel tissue and some occasions, in dentin tissue.^{9,21,22} This acid produces the smear layer removal generated by the burr during the shaping of the preparations to plastic restorations. It is also applied in protocols for the fixation of rigid restoration. In both cases, a gel presentation of different consistencies is used, at 37% for 15 seconds (enamel) and 8 seconds (dentin). This chemical agent is still under study for its clinical application in endodontics. The concentrations evaluated in many studies vary between 5% and 40% and have shown that their use allows to a smear layer removal in the dentin wall and in the tubules on the three-thirds of the root canals, leaving a surface suitable for sealing, and three-dimensional sealing.^{8,9,20,21} Nevertheless, it is essential to attend to the level of concentration of this

solution for its possible clinical use, since using high concentrations of it may not be biologically safe.²³⁻²⁶

During irrigation, solutions can be activated by different systems to improve their properties.^{27,28} These systems must not interfere with the surgical preparation, that is, they must not modify the dentin wall. The instruments used are based on sonic and/or ultrasonic vibrations, through specific tips, transforming mechanical energy into kinetic energy, increasing the temperature of the irrigant, the hydrostatic pressure, and generating an effect of microcavitation and turbulence within the solutions, producing, therefore, bubbles that collide the walls of the canal, creating waves that remove the smear later.^{3,10,23,26-28} There are several points of view regarding the differences in wall cleaning in those cases where passive and/or active irrigation techniques are used, whether sonic or ultrasonic.

The objective of this study was to use different concentrations of phosphoric acid as an adjuvant and to compare the degree of cleanliness generated by each concentration on the dentin wall of the root canal. Additionally, the changes regarding cleaning, generated by the ultrasonic activation of the auxiliary, were analyzed.

MATERIAL AND METHODS

For this study, 90 human lower premolars were used. The samples were selected under the following inclusion criteria: recently extracted specimens with a single root canal (verified with a periapical X-ray of the front and profile), straight, with mature apices, without caries or coronal or root restorations, and with a minimum of 18 millimeters long, from the apical end. In those pieces where the length exceeded 18 mm, the crown surplus was removed through a horizontal cut made with a metallic disc mounted on a pneumatic handpiece. The opening was performed at high speed with a number 2 round diamond stone in enamel and with a number 2 carbide burr in dentin, both with abundant aqueous cooling. All root canals were catheterized with a 25 mm long K #10 file (Dentsply®, Maillefer, Switzerland) until verifying their exit through the apical foramen. Then, longitudinal marks were made on the free faces of all the samples, with a metallic disc without exposing the root canal. Then, each tooth was included in a silicone plug (Condensation-Silicone-Zeta Plus®, Zhermack, Italy) to avoid the loss of irrigating fluids through the apical foramen. Subsequently, the cervical and middle third were instrumented with stainless steel K files #15 and #20 h of 25 mm length (Maillefer), and access

preparation was performed with the X1 instrument of 25 mm length of the ProTaper Next rotary system (Dentsply®, Maillefer, Switzerland) at 2 Ncm of torque and 300 rpm speed using an X-Smart Plus motor (Dentsply, Maillefer). The root canals were irrigated with 3 mL of 2.5% NaOCl and conductometry radiographs were taken.

Surgical preparation was performed with X1 and X2 instruments, both 25 mm long, from the ProTaper Next system (Dentsply®, Maillefer, Switzerland) to the working length using the same motor and identical torque and speed. During all the previous manoeuvres, the root canals were irrigated with 3 mL of 2.5% NaOCl, with a 20 G needle and a 5 mL plastic syringe. To carry out the last wash, 5 mL of distilled water was used. Apical patency was verified with a 25 mm long type K #10 file (Dentsply, Maillefer, Switzerland).

The samples were then randomly divided into five groups and a different chemical preparation protocol was applied to each one (Table 1).

The phosphoric acid solution was left in the canal to stand for 3 minutes. About activated samples, ultrasound was applied at the last minute. Following the irrigation protocol, the root canals were dried with sterile paper cones and obliterated at the crown with a sterile Teflon swab. Each piece was removed from the silicone pad and wrapped in aluminum foil to take it to the ultra-freezer at a temperature of -80 °C, for seven days. Once the period was over, they were removed from their packaging and divided into two halves using a chisel and a hammer. All halves were delimited in thirds, starting from the apical end: at 4 mm for the apical third, at 8 mm for the middle third, and at 12 mm for the cervical third. The halves of each group were placed in a sterile bottle and transported to be subjected to processing to be observed by the Scanning Electron Microscope (PHILIPS XL 30). The specimens were attached to the stage with cyanoacrylate, and then, dried, and metalized (palladium 60%-gold 40%, in an SC7620 Mini Sputter Coater, Quorum Technologies) for their observation.

Once the samples were placed inside the microscope and the amperage was reached (15 to 20 kV), the marks of each third were searched, and the photomicrograph was taken. The images obtained were right in the center of the root canal, at the level of the mark made previously. Six photomicrographs were taken of each sample: cervical, middle, and apical third, at 500x and 1000x. Then, they were analyzed by a calibrated operator, considering the criteria used by Rome et al (Table 2).²⁹

While de photomicrographs were being taken it was observed that the cleaning generated by 4% phosphoric acid (AF) was visibly greater than that of 3%, but there were no such notable differences between not activated (S/A) and activated (TO). That is why it was decided to increase the number of samples by 20 per group (total n of each group of the FA 4% = 30), to verify the differences between the two protocols.

Statistical analysis

A description of the score in the different groups was made using the median, number of observations (n), percentage, and descriptive measures for the ranges assigned to the original observations (minimum [Min], maximum [Max], median, mean). To statistically compare the score between two or more groups, the Mann-Whitney-Wilcoxon (MWW) or Kruskal-Wallis tests, respectively, were used. When the Kruskal-Wallis test yielded a significant result, post-hoc comparisons were made between pairs of groups using the Conover-Iman method, with Benjamini-Hochberg adjustment of p-values by multiple comparisons. A significance level of 5% was set.

RESULTS

The samples of groups 1 and 2 showed better results regarding the cleaning of the dentin wall. In both groups, the cervical and middle thirds showed a total absence of smear layer. In the apical thirds, some specimens had smear layer remains between the tubules but not inside them (Figure 1). Regarding the samples from group 3, a greater degree of cleaning of the dentin walls of the root canals was observed in the cervical thirds, with a small increase in the quantity of smear layer in the middle thirds and a large smear layer in the apical thirds were observed. A similar situation was observed in group 4. Although the coronal third showed a clean image of the dentin wall, at the middle and apical thirds, the proportion of smear layer increased markedly. Group 5 showed abundant smear layer on the three thirds.

Comparison of the degree of cleaning of the root canal between the different groups: a statistically significant difference in score was found between the compared treatments (Kruskal-Wallis test: $p < 0.05$). Post hoc comparisons (Conover-Iman method) showed significant differences in scores between groups 1 or 2 and the rest of the groups: the score was lower in groups 1 and 2 (Figure 2).

Comparison of the degree of root canal cleaning between non-activated and activated groups: no significant difference in the score was found (MWW test: $p = 0.24$) (Figure 3).

The results suggest that, within the compared groups, the degree of cleaning would not depend on activation, although it would increase with concentration (higher for the 4% concentration than for 3%). Regarding the comparison of the degree of cleaning between the thirds of the root canal, differences were observed between the samples: the degree of cleaning was reduced from coronal to apical; however, these differences did not become statistically significant.

DISCUSSION

The chemical treatment of the root canal system aims to facilitate instrumentation by keeping the dentin walls hydrated, removing debris, and reducing the number of bacteria existing in the complex anatomy of the root canals. To do this, both organic and inorganic matter must be removed. There are numerous solutions and protocols for this purpose.

As early as 1994, Garberoglio et al.³⁰ observed cleaning results similar to those obtained in this study, combining 24% phosphoric acid and citric acid 10%, compared to using EDTA 17% and EDTA 3%. Also, Prado et. al.³¹ verified the best performance of phosphoric acid at 37% compared to EDTA 17%, especially in the apical third.

Numerous authors related the degree of cleanliness with the time the solution stayed within the root canals. Among them, Morgan and Baumgartner³² pointed out that the proportion of smear layer removed is directly related to the exposure time. In their work, Scelza et al.³³ obtained better cleaning results after 3 minutes of contact and verified that keeping the solutions for longer than that time did not improve the effectiveness. Prado et. al.¹⁹ in 2011 also observed greater cleaning on three thirds of the canal with the use of phosphoric acid after 3 minutes. Based on the aforementioned, it was decided to take 3 minutes as the working time for this study. Contrary to our criteria, in 2013 Khalighinejad et al.²⁴ used 6% phosphoric acid for just 1 minute and verified that it was effective in removing the smear layer. In our case, it has been decided to increase working time and decrease concentration, thinking about the biological risk that high concentrations can generate.

The risk of using an acid solution at the apical third should be highlighted, since the possible consequences on periapical tissues are unknown

up to now. Taking these results into account, future research should focus on the biological action of phosphoric acid.

CONCLUSION

The use of phosphoric acid as an auxiliary at 4%, compared to 3%, demonstrated a greater degree of cleaning of the dentin wall of the root canal, not showing statistically significant improvements when activated with ultrasound.

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Cohen S, Liewehr F. *Procedimientos diagnósticos*. En: Hargreaves KM, Berman LH, editores. Cohen. Vías de la pulpa. 11a edición. Elsevier, Madrid: España; 2016. pp. 3-30.
2. Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontics. *Int Endod J*. 1997; 30: 297-306.
3. Mohammadi Z, Shalavi S, Giardino L, Palazzi F, Asgary S. Impact of ultrasonic activation on the effectiveness of sodium hypochlorite: a review. *Iran Endod J*. 2015; 10: 216-220.
4. Estrela C, Silva JA, de Alencar AH, Leles CR, Decurcio DA. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus Faecalis* - A systematic review. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16: 364-368.
5. Pasqualini D, Cuffini AM, Scotti N et al. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of a 5% sodium hypochlorite subsonic-activated solution. *J Endod*. 2010; 36: 1358-1360.
6. Wu MK, de Schwartz FB, van der Sluis LW, Wesselink PR. The quality of root fillings remaining in mandibular incisors after root-end cavity preparation. *Int Endod J*. 2001; 34: 613-619.
7. Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod*. 2004; 30: 559-567.
8. Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K. A comparative study of the removal of smear layer by three endodontic irrigants and two types of laser. *Int Endod J*. 1999; 32: 32-39.
9. Prado M, Silva EJ, Duque TM et al. Antimicrobial and cytotoxic effects of phosphoric acid solution compared to the other root canal irrigants. *J Appl Oral Sci*. 2015; 23: 158-163.
10. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002; 94: 658-666.
11. Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA. The smear layer in endodontics. *Dent Clin North Am*. 1990; 34: 13-25.
12. Sena NT, Gomes BP, Vianna ME et al. *In vitro* antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J*. 2006; 39: 878-885.
13. Krishnamurthy S, Sudhakaran S. Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod*. 2010; 36: 1154-1157.
14. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2001; 34: 424-428.
15. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod*. 1987; 13: 147-157.

16. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a highvolume final flush with several irrigation solutions: part 3. *J Endod.* 1983; 9: 137-142.
17. Aktener BO, Bilkay U. Smear layer removal with different concentrations of EDTA-ethylenediamine mixtures. *J Endod.* 1993; 19: 228-231.
18. Sen BE, Wesselink PR, Turkun M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J.* 1995; 28: 141-148.
19. Prado M, Gusman H, Gomes B, Simao RA. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. *J Endod.* 2011; 37: 255-258.
20. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006; 32: 389-398.
21. Perez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Martín-Peinado FJ, González-López S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 2.5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod J.* 2008; 41: 418-423.
22. Ayad MF. Effects of rotatory instrumentation and different etchants on removal of smear layer on human dentin. *J Prosthet Dent.* 2001; 85: 67-72.
23. Albino Souza M, Tretin Motter F, Pitton Fontana T, Barbosa Ribeiro M, Miyagaki DC, Cecchin D. Influence of ultrasonic activation in association with different final irrigants on intracanal smear layer removal. *Braz J Oral Sci.* 2016; 15: 16-20.
24. Khalighinejad N, Hasheminia M, Feizinafar M. The efficacy of 5% maleic acid, 6% phosphoric acid and 17% EDTA in smear layer removal. A scanning electron microscopic investigation. *Stomatoloski Glasnik Srbije.* 2013; 60: 191-199.
25. Prado M, Simao RA, Gomes BP. Effect of different irrigation protocols on resin sealer bond strength to dentin. *J Endod.* 2013; 39: 689-692.
26. Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigant solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. *J Endod.* 2006; 32: 993-997.
27. Khalap ND, Kokate S, Hedge V. Ultrasonic versus sonic activation of the final irrigant in root canals instrumented with rotary/reciprocating files: An *in vitro* scanning electron microscopy analysis. *J Conserv Dent.* 2016; 19: 368-372.
28. Plotino G, Cortese T, Grande NM et al. New technologies to improve root canal disinfection. *Braz Dent J.* 2016; 27: 3-8.
29. Rome WJ, Doran JE, Walker WA 3rd. The effectiveness of Gly-Oxide and sodium hypochlorite in preventing smear layer formation. *J Endod.* 1985; 11: 281-288.
30. Garberoglio R, Becce C. Smear layer removal by root canal irrigants. A comparative scanning microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994; 78: 359-367.
31. Prado M, Simao RA, Gomes BP. A microleakage study of gutta-percha/AH plus and Resilon/Real self-etch systems after different irrigation protocols. *J Appl Oral Sci.* 2014; 22: 174-179.
32. Morgan LA, Baumgartner JC. Demineralization of resected root-ends with methylene blue dye. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997; 84: 74-78.
33. Scelza MF, Piero V, Scelza P, Pereira M. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 98: 499-503.

Correspondencia / Correspondence:

Romina Loiacono

E-mail: loiaconoromi@gmail.com