



Efecto antimicrobiano del agua potencialmente oxidativa

César Iván Gaitán Fonseca,* Ana María González Amaro,[§] Roel Cruz Gaona,^{||}
Héctor Eduardo Flores Reyes,[¶] Amaury de Jesús Pozos-Guillén**

RESUMEN

El agua potencialmente oxidativa (APO) es una solución activada por un proceso electrolítico que tiene aplicaciones en el área de la salud. **Objetivo:** El objetivo del estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano del APO en concentraciones de NaCl al 1% y al 2.5% contra cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas de conducto radicular. **Metodología:** Se utilizaron cepas de *E. faecalis* aisladas de conducto radicular de pacientes con indicación de retratamiento, con presencia de lesión periapical y diagnóstico de periodontitis apical crónica. Se utilizó tioglicolato-prerreducido (BD BBL) como medio de transporte y como medio de cultivo cajas de agar sangre CDC (BD BBL) en condiciones de anaerobiosis. Para evaluar la solución irrigante se utilizó la técnica de dilución serial. Se dividieron 86 muestras en 4 grupos experimentales de APO (1% y 2.5%), con un esquema de irrigación de 9 mL de APO + 1 mL de inóculo con un tiempo de exposición al irrigante de 5 minutos. Los tiempos de incubación para todas las muestras fueron de 24 y 48 h. Como control positivo se utilizó NaOCl 5.25% como irrigante y en el control negativo agua destilada. **Resultados:** Se demostró efectividad del APO en concentración de NaCl (Fermont) al 1 y 2.5%, obteniendo un promedio de 28 unidades formadoras de colonias (UFC) y de 2 UFC para el APO al 1 y al 2.5%, respectivamente. **Conclusiones:** El APO tiene mayor efecto antimicrobiano en ambas concentraciones de NaCl utilizadas (1 y 2.5%) en comparación con el control. Sin embargo, es necesario realizar estudios que evalúen la eficacia de éste sobre el biofilm bacteriano, así como su biocompatibilidad para proponer su uso como irrigante intraconducto.

Palabras clave: Agua potencialmente oxidativa, *E. faecalis*, efecto antimicrobiano.

Key words: Oxidative potential water, *E. faecalis*, antimicrobial effect.

ABSTRACT

The oxidative potential water (OPW) is an electro-chemically activated solution and it is widely used in health fields. **Objective:** The objective was to evaluate the antimicrobial effect of the OPW in concentration of 1% and 2.5% of NaCl against *E. faecalis* isolated from root canal. **Methodology:** *E. faecalis* samples isolated from patients root canals retreatment with an apical lesion and diagnosis of chronic apical periodontitis were used. The samples were incubated in anaerobic conditions in CDC blood agar medium until their use. The serial CDC technique was used to evaluate the root canal irrigant. Eighty six samples were divided in 4 experimental groups of OPW (1% and 2.5%), with an irrigation scheme of 9 mL of OPW + 1 mL of inoculate and with 5 minutes of exposition to the irrigant. The incubation times for all samples were of 24 and 48 hours. In the positive control, 5.25% NaOCl was used and in the negative control, distilled water. **Results:** The OPW was effective in concentrations of 1% and 2.5% NaCl, obtaining an average of 28 CFU and 2 CFU for 1% and 2.5% OPW, respectively. **Conclusions:** The OPW has an antimicrobial effect in the concentrations used of NaCl (1% and 2.5%). Nevertheless, it is necessary to study the efficacy of this irrigant on the bacterial biofilm and its biocompatibility in order to propose it, as a root canal irrigant.

INTRODUCCIÓN

La terapia endodóntica se divide en varias etapas, dentro de éstas, el trabajo biomecánico se considera la más importante, ya que al realizar una adecuada apertura y conformación del conducto, se podrá facilitar la entrada del irrigante hacia el interior del sistema de conductos, así se podrán eliminar las bacterias presentes, procurando evitar una recolonización por la microflora oral, ya que esto puede repercutir en provocar infecciones secundarias y traer como consecuencia el fracaso del tratamiento.^{1,2} El hipoclorito de sodio y la clorhexidina se consideran el «estándar de oro», ya que han muestra-

do mejores resultados al utilizarlos en el proceso de irrigación, además de presentar propiedades antibacterianas importantes.

* Alumno del 2do año de la Maestría en Endodoncia de la Facultad de Estomatología.

§ Jefa del Laboratorio de Investigación de la Maestría en Endodoncia de la Facultad de Estomatología.

|| Profesor-Investigador del Instituto de Metalurgia.

¶ Coordinador de la Maestría en Endodoncia de la Facultad de Estomatología.

** Profesor-Investigador de la Facultad de Estomatología.

En años recientes, fue introducida en procesos de desinfección médica e industrial, la solución llamada agua potencialmente oxidativa (APO) o agua activada electroquímicamente (ECA). Esta solución de naturaleza electrolítica presenta características importantes: un pH 2.3-2.7, un potencial óxido-reducción (REDOX) mayor a 1100 mV.³

En cuanto a la gran diversidad de los microorganismos orales, las bacterias poseen la mayor importancia entre los agentes patogénicos, provocando enfermedades como caries, enfermedad periodontal y patologías pulpares y periapicales. La mayoría de las bacterias encontradas en el conducto, han sido reportadas en concentraciones que van desde 140 a 3,300,000 UFC/mL⁴⁻⁷ y gran parte se llega a eliminar por la fase mecánica de la instrumentación, por el desprendimiento que se realiza al momento de trabajar las paredes dentinarias; sin embargo, existen bacterias anaerobias facultativas y estrictas que no se eliminan y pueden alojarse en el interior de los tubulillos dentinarios, se mantienen ahí y es imposible erradicar, a menos que el irrigante tenga buena capacidad de penetración en los mismos y por acción de arrastre salgan del interior del conducto. Además, si no se realiza una adecuada limpieza y desinfección del conducto, estos microorganismos pueden sobrevivir, nutrirse del barro dentinario presente en el interior del conducto y adaptarse a su nueva condición de vida. Los microorganismos persistentes son los causantes del fallo de la terapia endodóntica, tal es el caso del *E. faecalis* considerado un anaerobio facultativo.⁷⁻¹⁰ Este microorganismo ha sido encontrado en conductos radiculares obturados con síntomas de periodontitis apical crónica en un 70% de cultivos positivos, así mismo se ha llegado a recuperar de lesiones periapicales refractarias. Esta bacteria puede persistir, ya que posee numerosos factores de virulencia.^{11,12}

El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad antimicrobiana del APO utilizando dos concentraciones de NaCl al 1 y 2.5%, en contra de cepas de *E. faecalis* aisladas de conducto radicular.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio experimental «*in vitro*» fue realizado en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de la Maestría de Endodoncia y en el Instituto de Metalurgia de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP). Fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Estomatología, UASLP.

Aislamiento, identificación y conservación del microorganismo

Se tomaron muestras de pacientes que acudieron a la clínica de la Maestría en Endodoncia de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, seleccionando aquellos pacientes que presentaron sintomatología persistente después del tratamiento de conductos. Los procedimientos fueron realizados bajo anestesia local y con aislamiento absoluto. Antes de realizar el acceso a la cámara pulpar se realizó la desinfección en el campo operatorio.¹³ La toma de muestra se realizó con puntas de papel estériles # 25-40, se colocó un mechero en un radio no mayor a 30 cm, para garantizar la menor cantidad de oxígeno posible. Una vez introducida la punta de papel, se dejó 1 min en contacto con el conducto radicular y posteriormente se colocó en tubos de ensaye con medio de tioglicolato prerreducido (Oxoid LTD, Basingstoke, Hampshire, England). Este procedimiento se realizó por triplicado en cada conducto radicular, y posteriormente se llevó a su incubación en la cámara de anaerobiosis (COY Laboratory Products Inc, Modelo 2002 Michigan). La incubación de la muestra se realizó por espacio de 24 horas, para garantizar su adecuado crecimiento, posteriormente se hizo un sembrado en placa agar CDC con 5% de sangre de carnero (DIBICO®) por otras 24 horas. Una vez cumplido este periodo de incubación, se procedió a realizar la tinción de gram (HYCEL DE MÉXICO). Además, se realizó prueba de catalasa y bilis esculina. Para poder asegurar el aislamiento de la cepa de *E. faecalis* se realizaron pruebas bioquímicas de identificación MULTISCAN (Dade Behring Inc. CA, USA). La cepa aislada se conservó en medio de tioglicolato prerreducido en condiciones de anaerobiosis estricta hasta su posterior uso.

Preparación del APO

El APO fue producido por un proceso de electrólisis. Se utilizó una celda de acrílico, la cual se dividió en dos compartimentos (cátodo/ánodo) separados por una membrana catiónica, esta última para evitar el paso de los iones de un compartimento a otro en la solución, permitiendo la concentración de protones (H⁺) y especies oxidadas en el lado aniónico. Posteriormente, se instalaron dos electrodos, uno de óxido de titanio (ánodo), y otro de titanio (cátodo). Luego, se colocaron 500 mL de cloruro de sodio al 1 y 2.5% previamente preparadas en cada compartimento y se aplicó un voltaje a la celda de 5.0 V y 13 amperes, utilizando una fuente de poder (COLE-PALMER). Dos electrodos fueron colocados dentro del compartimento del ánodo, para regis-

trar el potencial REDOX (Pt-Ag/AgCl) y pH (Ag/AgCl) durante la activación electrolítica de la solución, hasta obtener las propiedades requeridas para la obtención del APO: potencial REDOX mayor a 1100 mV y pH 2.7.

Determinación de la capacidad antimicrobiana del APO

Se tomó como referencia la escala de Mc Farland, sacando un promedio de crecimiento de todas las escalas en sus periodos de incubación, siendo éste la escala de Mc Farland 7 (2.1 millones bacterias x mL). Se colocaron 9 mL de APO + 1 mL de inóculo, con un tiempo de exposición de 5 minutos, sembrando en placas agar CDC con técnica de «L», e incubando por 24 y 48 horas. Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias a las 24 y 48 horas.

RESULTADOS

Las muestras se dividieron en los siguientes grupos:

Grupo 1: APO 1% + 5 min de exposición + 24 horas de incubación

Grupo 2: APO 1% + 5 min de exposición + 48 horas de incubación

Grupo 3: APO 2.5% + 5 min de exposición + 24 horas de incubación

Grupo 4: APO 2.5% + 5 min de exposición + 48 horas de incubación

En el *cuadro 1*, se muestran los resultados correspondientes a porcentaje de crecimiento bacteriano, en donde se observa que los grupos 3 y 4 mostraron mayor efectividad en cuanto a porcentaje de crecimiento de *E. faecalis*, obteniendo un 5.55% de crecimiento, mientras que los grupos 1 y 2 obtuvieron 44.5% de crecimiento. El control positivo (NaOCl 5.25%) mostró 0% de crecimiento y el control negativo (agua destilada) 100% de crecimiento.

En la *figura 1*, se comparan estos mismos porcentajes, en donde se observa diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$, χ^2) entre los grupos 1 y 2 cuando se comparan con los grupos 3 y 4; al igual que entre el grupo control positivo y los grupos 1 y 2 ($p < 0.05$, χ^2). No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$, χ^2) entre los grupos 3 y 4 comparados con el grupo control positivo (NaOCl 5.25%). Finalmente, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$, χ^2) al comparar los grupos 3 y 4 con el grupo control negativo (agua destilada).

DISCUSIÓN

La desinfección del campo operatorio garantizó el aislamiento de *E. faecalis* de conducto radicular en pacientes con indicación de retratamiento y sintomatología de periodontitis apical crónica. Reportado en la literatura, el *E. faecalis* se presenta con mayor incidencia de persistencia después del tratamiento endodóntico. Esto se debe a factores de virulencia que presenta esta bacteria; tales como sustancia de agregación, sistema de feromonas sexuales, enzimas como citolisina

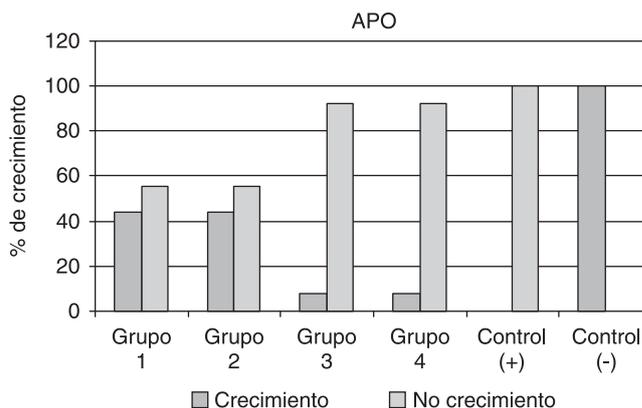


Figura 1. Porcentaje de crecimiento de *E. faecalis*.

Cuadro I. Porcentajes de crecimiento de *E. faecalis*.

Grupo	n (%)	n/ No crecimiento (%)	n/ Crecimiento n (%)	UFC ($\bar{X} \pm DE$)
Grupo 1	18 (100)	10 (55.50)	8 (44.5)	28 \pm 10.80
Grupo 2	18 (100)	10 (55.50)	8 (44.5)	28 \pm 10.80
Grupo 3	18 (100)	17 (94.40)	1 (5.55)	2 \pm 0
Grupo 4	18 (100)	17 (94.40)	1 (5.55)	2 \pm 0
Control (+) NaOCl 5.25%	18 (100)	18 (100)	0 (0)	0 \pm 0
Control (-) agua destilada	18 (100)	0 (0)	18 (100)	Incontables

N = número de muestras

(%) = porcentaje

UFC ($\bar{X} \pm DE$) = Unidad formadora de colonia (promedio \pm desv. estándar)

y hialuronidasa; esto le proporciona características importantes para poder competir contra otras bacterias y adaptarse ante la falta de nutrientes; además, se ha descrito como formadora de biofilm.^{14,15}

La solución experimental se realizó de acuerdo a los estándares establecidos^{1,2} utilizando dos concentraciones 1% y 2.5% de NaCl. Al modificar la concentración de solución salina para producir el APO por medio electrolítico, no hubo cambios en sus propiedades: pH y potencial REDOX. Estos parámetros se generan durante la electrólisis del APO, al producir protones y alta concentración de O₂; además, diversas moléculas, iones y radicales libres son generados a través de la activación electroquímica del APO, siendo principalmente hidrógeno y oxígeno, mientras que las concentraciones de Cl⁻ dependen de la concentración de NaCl inicial. Se demostró que el APO posee capacidad antimicrobiana contra cepas de *E. faecalis* aisladas de conducto radicular en concentraciones 1% y 2.5% de NaCl. Este efecto antimicrobiano del APO, se debe a tres características importantes que ésta posee: un pH ácido (2.7), potencial REDOX de valores positivos (+ 1100 mV) y una concentración de cloro importante (+ 60 ppm). Estos tres factores en conjunto hacen que el APO pueda actuar en contra del *E. faecalis*, eliminándolo, ya que las bacterias anaerobias facultativas y estrictas, para su adecuado crecimiento en el interior del conducto radicular requieren de pH alcalinos y potenciales REDOX en promedio de + 300 mV a -420 mV.¹⁹ Un agente oxidante (potencial REDOX alto) aleja los electrones de la membrana celular, lo que causa que se desestabilice y se rompa. Así al destruir la integridad de la membrana celular conlleva a una muerte rápida.^{2,20}

Iwasawa et al (1996), Nagamatsu et al (2002), Lee et al (2006) utilizaron el APO para evaluar efecto antimicrobiano en diferentes cepas bacterianas ATCC *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinobacillus Actinomyces comitans*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*, mostrando eficacia contra estas cepas bacterianas; concluyendo que la solución actúa por dos características: la cantidad de cloro presente y su pH ácido (2.7).²¹⁻²³ En el presente estudio, el APO demostró capacidad antimicrobiana sobre aisladas de conductos radiculares necróticos, a diferencia de otros estudios en los que utilizan cepas ATCC, ya que los microorganismos presentes en patologías pulpares no presentan el mismo comportamiento por las condiciones selectivas propias del conducto radicular.^{21,24-26}

Hata et al (1996), (2001) Solovyeva et al (2000) realizaron estudios, donde evaluaron la capacidad del APO para remoción de barro dentinario y dejar permeables los túbulos dentinarios, sugiriendo que el APO es tan eficaz

como el hipoclorito de sodio al 5% o el EDTA al 17% para abrir y dejar permeables los tubulillos dentinarios. Además de proponer esta solución para ser utilizada como un irrigante en el tratamiento de conductos radiculares.^{13,15} Estudios previos han demostrado que el APO es eficaz para remover materia orgánica e inorgánica, por lo que esta solución pudiera utilizarse en la limpieza de túbulos dentinarios infectados *in vitro* en modelos de dentina, como el utilizado por Haapasalo.^{2,10,27}

Horiba et al (1999) evaluaron los efectos del cambio en el tiempo, relacionado con sus propiedades principales: pH, potencial REDOX y la concentración de Cl⁻, así como sus condiciones de almacenamiento, comprobando su efectividad antimicrobiana en un periodo de 1-7 días, dando las siguientes conclusiones: el APO mantiene constante su pH y potencial REDOX si se conserva en un recipiente cerrado y alejado de la luz, presentó efectos bactericidas y bacteriostáticos en el periodo de tiempo estudiado en contra de microorganismos aislados de conductos radiculares.²³ Previamente, hemos demostrado que el APO tiene una vida media de 7 días en condiciones de almacenamiento, similar a lo reportado por Horiba et al (1999), demostrando que el pH y potencial REDOX se mantienen constantes durante este periodo de tiempo. Debe recordarse que el APO es una solución activada por electrólisis, en donde se forzan sus moléculas para que éstas cambien su naturaleza, pasado un periodo de tiempo estas moléculas que cambiaron vuelven a su estado original y la solución pierde sus propiedades que la hacen efectiva.

Marais et al (2001), Gulabilava et al (2004) evaluaron la efectividad del agua activada electroquímicamente en dientes humanos extraídos infectados con cepas ATCC *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *A. Actinomyces comitans*, *E. faecalis*, en sus resultados y conclusiones mencionan que esta solución causó una reducción importante en el número de bacterias anaerobias en el conducto, pero no fue estadísticamente significativo cuando fue comparado con el hipoclorito de sodio.^{1,3} Los resultados del presente estudio demuestran que el APO tuvo también una reducción importante en cuanto al crecimiento de *E. faecalis*, lo que fortalece la hipótesis de la capacidad antimicrobiana del APO, que es similar al NaOCl, el cual tiene adecuado funcionamiento a pH neutro-alcalino. Con el fundamento de esta observación, se tuvo la inquietud de la acción del medio de cultivo utilizado (tioglicolato) sobre el APO, esto debido a que el tioglicolato tiene un pH neutro (7.1) y potencial REDOX < 110 mV, en comparación del pH que presenta el APO (2.7). Esto se determinó al eliminar el tioglicolato por medio de centrifugación, desechando el sobrenadante, efectuando dos lavados con agua destilada. Posterior a esto, se realizó un cultivo al sedimento

(masa celular bacteriana) para comprobar su viabilidad; los resultados obtenidos mostraron el crecimiento en placa. Con este mismo sedimento (libre de medio de cultivo) se realizaron las pruebas microbiológicas, por lo que se determinó que el tioglicolato (pH 7.1 ± 0.2) influye en la acción del APO, ya que elevó el pH disminuyendo el potencial REDOX.

Una de las propuestas del presente trabajo, es utilizar el APO como un irrigante en la terapia endodóntica; sin embargo, no existen en la literatura revisada reportes acerca del APO probada en contra de cultivos mixtos (polimicrobianos) obtenidos de conducto radicular, por lo que son necesarios estudios para evaluar la eficacia antimicrobiana del APO sobre cultivos mixtos.

CONCLUSIONES

El APO tiene efecto antimicrobiano en las dos concentraciones de NaCl utilizadas (1% y 2.5%) contra cepas bacterianas planctónicas de *Enterococcus faecalis*. Sin embargo, es necesario realizar estudios que evalúen la eficacia de éste sobre el biofilm bacteriano, así como su biocompatibilidad para proponer su uso como irrigante intraconducto.

REFERENCIAS

1. Marais JT, Williams WP. Antimicrobial effectiveness of electrochemically activated water as an endodontic irrigation solution. *Int Endod J* 2001; 34(3): 23-43.
2. Hata G, Hayami S, Weine FS, Toda T. Effectiveness of oxidative potential water as a root canal irrigant. *Int Endod J* 2001; 34(4): 308-317.
3. Gulabivala K, Stock JR, Lewsey JD, Ghori S, Ng YL, Spratt DA. Effectiveness of electrochemically activated water as an irrigant in an infected tooth model. *Int Endod J* 2004; 37(9): 624-631.
4. Prince EL, Muir AV, Thomas WM, Stollard RJ, Sampson M, Lewis JA. An evaluation of the efficacy of aqualox for microbiological control of industrial cooling tower systems. *J Hosp Infect* 2002; 52(4): 243-249.
5. Park H, Hung YC, Chung D. Effects of chlorine and pH on efficacy of electrolyzed water for inactivating *Escherichia coli* 0157: H7 and *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 2004; 91(1): 13-18.
6. Kohno S, Kawata T, Kaku M, Fujita T, Tsutsui K, Ohtani J, Tenjo K, Motokawa M, Tohma Y, Shigekawa M, Kamata H, Tanne K. Bactericidal effects of acidic electrolyzed water on the dental unit waterline. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57: 52-54.
7. Miyamoto M, Inoue K, Gu Y, Hoki M, Haji S, Ohyanagi H. Effectiveness of acidic oxidative potential water in preventing bacterial infection in islet transplantation. *Cell Transplant* 1999; 8(4): 405-411.
8. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006; 32(5): 389-398.
9. Estrela C. *Ciencia Endodóntica*. Artes Médicas, 2005.
10. Silva-Herzog D, Andrade V, Gaona RC, Gaitán C, Trancoso R, Turner K, Sayao S. Propriedades físico-químicas da água potencialmente oxidativa e sua capacidade de remoção da camada residual de instrumentação. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia* 2006; 3: 57-61.
11. Becking AG. Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontics treatment. Report of three cases. *Oral Surg, Oral Med, Oral Path* 1991; 71(3): 346-348.
12. Marais JT. Cleaning efficacy of new root canal irrigation: A preliminary evaluation. *Int Endod J* 2000; 33(4): 320-325.
13. Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. *J Endod* 2007; 33(2): 114-118.
14. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006; 32(2): 93-98.
15. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis* relationship to endodontic a disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15(5): 308-320.

LECTURAS RECOMENDADAS

1. Radcliffe CE, Potouridou L. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontics microorganisms *Actinomyces Israelii*, *A. Naeslundii*, *Candida Albicans* and *Enterococcus Faecalis*. *Int Endod J* 2004; 37(7): 438-446.
2. Shurrab MY. Antimicrobial efficiency of some antiseptic products on endodontic microflora isolated from gangrenous pulp tissue. *J Contemp Dent Pract* 2006; 7(4): 53-62.
3. Da Silva LA, Nelson FP, Faria G, De Souza MC, Ito IY. Bacterial profile in primary teeth with necrotic pulp and periapical lesions. *Braz Dent J* 2006; 17(2): 144-148.
4. Vianna ME, Horz HP, Gomes BP. *In vivo* evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J* 2006; 39(6): 484-492.
5. Trevor V. Suslow. *Oxidation-reduction potential (ORP) for water disinfection monitoring, control and documentation*. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. 2004 Publication 8149.
6. Iwasawa A, Nakamura Y. Bactericidal effect of acidic electrolyzed water-comparison of chemical acidic sodium hydrochloride (NaOCl) solution *Kansenshogaku Zasshi* 1996; 70(9): 915-922.
7. Lee SH, Choi BK. Antibacterial effect of electrolyzed water on oral bacteria. *J Microbiol* 2006; 44(4): 417-422.
8. Nagamatsu Y, Chen KK. Durability of bactericidal activity in electrolyzed neutral water by storage. *Dent Mater J* 2002; 21(2): 93-104.
9. Nagamatsu Y, Tajima K, Kakigawa H. Application of electrolyzed acid water to sterilization of denture base part 1. Examination of sterilization effects on resin plate. *Dent Mater J* 2001; 20(2): 148-155.
10. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod* 1992; 18(9): 427-430.
11. Tronstad L, Titterud PS. The evolving new understanding of endodontic infections. *Endodontic Topics* 2003; 6(1): 56-77.
12. Haapasalo M, Ørstavik D. *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987; 66(8): 1375-1379.

Dirección para correspondencia:

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillén

Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Dr. Manuel Nava Núm. 2, Zona Universitaria, 78290; San Luis Potosí, SLP México. Tel: 52 (444)8262357 X 106
Fax: 52 (444)8139743. apozos@uaslp.mx