



Facultad de Ciencias de la Salud

Tema:

**“Eficacia De La N-acetilcisteína En Endodoncia: Comparación Y Combinación Con
Hidróxido de Calcio En La Inhibición De *Enterococcus Faecalis*.”**

Trabajo de Titulación para la obtención del Título de Especialista en Endodoncia

Presentada por:

IARA ESTHEFANNY BASURI SILVA

Tutor:

DR. KEVIN DAVID VILLOTA TREJO

Quito, Mayo de 2026

Declaración De Aceptación De Norma Ética Y Derechos

El presente documento se ciñe a las normas éticas y reglamentarias de la Universidad Hemisferios. Así, declaro que lo contenido en este ha sido redactado con entera sujeción al respeto de los derechos de autor, citando adecuadamente las fuentes. Por tal motivo, autorizo a la Biblioteca a que haga pública su disponibilidad para lectura dentro de la institución, a la vez que autorizo el uso comercial de mi obra a la Universidad Hemisferios, siempre y cuando se me reconozca el cuarenta por ciento (40%) de los beneficios económicos resultantes de esta explotación.

Además, me comprometo a hacer constar, por todos los medios de publicación, difusión y distribución, que mi obra fue producida en el ámbito académico de la Universidad Hemisferios.

De comprobarse que no cumplí con las estipulaciones éticas, incurriendo en caso de plagio, me someto a las determinaciones que la propia Universidad plantee.

Firma del estudiante



Iara Esthefanny Basuri Silva

C.I.: 1600598344

Dedicatoria

Este logro, que representa el cierre de una de las etapas más importantes de mi vida, está dedicado, en primer lugar, a Dios, quien estuvo presente en cada momento de este camino, dándome la fuerza cuando sentía que no podía más, guiando mis pasos en medio de la incertidumbre y sosteniéndome incluso en silencio cuando las palabras no alcanzaban.

A mis padres, porque su amor incondicional ha sido siempre mi mayor refugio, porque en su esfuerzo constante encontré el ejemplo más grande de perseverancia y en todo lo que hicieron, muchas veces sin decirlo, construyeron el camino que hoy me permite llegar hasta aquí; en ellos encontré siempre la motivación para no rendirme, incluso en los momentos más difíciles.

A quienes me brindaron un hogar cuando estuve lejos, por su generosidad, por su calidez y por hacerme sentir acompañada cuando más lo necesitaba, convirtiendo la distancia en algo más llevadero.

Y, sin duda, a mis docentes, por compartir sus conocimientos con vocación, por su paciencia, por cada enseñanza que fue más allá de lo académico y por inspirarnos a crecer, no solo como profesionales, sino también como personas, recordándonos que lo que hacemos también se ama.

Asimismo, a mis compañeros, quienes con su compañía, apoyo y presencia constante se convirtieron en ese impulso necesario en los días de cansancio y duda, recordándome que no estaba sola y que siempre había una razón para seguir adelante hasta alcanzar esta meta.

Índice

Declaración De Aceptación De Norma Ética Y Derechos	2
Dedicatoria.....	3
Índice De Tablas.....	5
Resumen.....	6
Introducción	8
Materiales Y Métodos.....	11
Resultados	18
Discusión	26
Conclusiones	28
Limitaciones.....	29
Recomendaciones	30
Referencias.....	31

Índice De Tablas

Tabla 1 Análisis Estadístico: Pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov / Shapiro-Wilk	18
Tabla 2 Comparación de sustancias a las 24 horas mediante la prueba de Wilcoxon y t de Student.	19
Tabla 3 Comparación de sustancias a las 48 horas mediante la prueba de Wilcoxon y t de Student.	20
Tabla 4 Comparación de sustancias a las 72 horas mediante la prueba de Wilcoxon y t de Student.	21
Tabla 5 Comparación temporal del hidróxido de calcio (Ca(OH)₂) a las 24, 48 y 72 horas mediante pruebas de Wilcoxon y t de Student (Valores medios ± desviación estándar y diferencias entre tiempos).	22
Tabla 6 Comparación temporal de N-acetilcisteína (NAC) a las 24, 48 y 72 horas mediante pruebas de Wilcoxon y t de Student (Valores medios ± desviación estándar y diferencias entre tiempos).	23
Tabla 7 Comparación temporal de la combinación Ca(OH)₂ + NAC a las 24, 48 y 72 horas mediante pruebas de Wilcoxon y t de Student. (Valores medios ± desviación estándar y diferencias entre tiempos).	24
Tabla 8 Resumen de tabla estadística de muestras emparejadas	25

“Eficacia De La N-acetilcisteína En Endodoncia: Comparación Y Combinación Con Hidróxido de Calcio En La Inhibición De *Enterococcus Faecalis*”

Iara Esthefanny Basuri Silva

iebasuris@estudiantes.uhemisferios.edu.ec

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana de la N-acetilcisteína (NAC), hidróxido de calcio $[Ca(OH)_2]$ y su combinación frente a *Enterococcus faecalis*, microorganismo asociado a infecciones endodónticas persistentes. Se realizó un estudio experimental in vitro mediante difusión en agar bilis esculina, utilizando 24 cajas de Petri inoculadas con la cepa estándar *E. faecalis* (ATCC 29212). Se aplicaron los materiales en pozos del medio de cultivo y la actividad antibacteriana se determinó midiendo los halos de inhibición (mm) a las 24, 48 y 72 horas. Los datos se analizaron con pruebas de normalidad y comparaciones para muestras relacionadas ($p < 0,05$).

Los resultados mostraron que la N-acetilcisteína presentó actividad antibacteriana moderada y estable en el tiempo. La combinación con hidróxido de calcio no evidenció efecto sinérgico, con valores similares a la NAC sola y menores que el hidróxido de calcio individual. Se observó una leve disminución del efecto inhibitorio con el tiempo en todos los grupos evaluados. Se concluye que el hidróxido de calcio mantiene la mayor eficacia frente a *E. faecalis*, sin ventajas al combinarlo con NAC.

Palabras clave: *Enterococcus faecalis*; N-acetilcisteína; medicación intracanal; endodoncia; hidróxido de calcio; halos de inhibición

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of N-acetylcysteine (NAC), calcium hydroxide (Ca(OH)₂), and their combination against *Enterococcus faecalis*, a microorganism frequently associated with endodontic infections. An *in vitro* experimental study was conducted using the bile esculin agar diffusion, with 24 Petri dishes inoculated with a standard strain of *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Wells were prepared in the culture medium and the experimental materials were applied. Antibacterial activity was determined by measuring inhibition halo diameter (mm) at 24, 48 and 72 hours. Data were analyzed using normality tests (Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk), and paired comparison test (Wilcoxon and Student's t test) were applied as appropriate statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results showed that N-acetylcysteine exhibited moderate and relatively stable antibacterial activity over time. The combination of NAC with calcium hydroxide did not demonstrate a synergistic effect, as inhibition values were similar to NAC used alone and lower than calcium hydroxide used alone. The temporal analysis showed a slight reduction in inhibitory effect at 24, 48 and 72 hours for all the substances. Under the *in vitro* agar diffusion model used, calcium hydroxide maintained the highest antibacterial efficacy against *Enterococcus faecalis*, while NAC neither exceeded nor enhanced its effect when used in combination, showing no advantage within the evaluated experimental model.

Keywords: *Enterococcus faecalis*; *N-acetylcysteine*; *intracanal medication*; *endodontics*; *calcium hydroxide*; *inhibition halos*

Introducción

El sistema de conductos radiculares presenta una anatomía altamente compleja, caracterizada por la presencia de conductos laterales, istmos y túbulos dentinarios. Estas características anatómicas dificultan su limpieza durante el tratamiento endodóntico, lo que origina zonas inaccesibles donde los microorganismos pueden persistir incluso después de la instrumentación y la irrigación (Zou et al., 2024, p. 2). Estas complejidades anatómicas favorecen la formación de biofilms resistentes, definidos como comunidades microbianas organizadas dentro de una matriz extracelular que limita la penetración de los agentes antimicrobianos y contribuye a la persistencia bacteriana (Jhajharia et al., 2015, p. 3). En este sentido, los biofilms intrarradiculares constituyen microambientes protegidos que incrementan la resistencia microbiana frente a la instrumentación mecánica y a la irrigación convencional (Jayakumar et al., 2024, p. 1), lo que constituye uno de los principales factores implicados en el fracaso endodóntico.

Entre los patógenos asociados a las infecciones persistentes, *Enterococcus faecalis* destaca por su capacidad de sobrevivir en condiciones adversas del sistema de conductos radiculares, penetrar los túbulos dentinarios y adherirse firmemente a la dentina, lo que le permite persistir después de los procedimientos de instrumentación e irrigación y contribuir al fracaso del tratamiento (Alghamdi y Shakir, 2020, p. 2). Además, posee mecanismos de supervivencia que incluyen la tolerancia a ambientes con pH alcalino, la resistencia a la privación nutricional y la capacidad de formar biofilms, lo que favorece su adaptación y permanencia en conductos previamente tratados (Stuart et al., 2006, pp. 94-95). De forma complementaria, la presencia de este microorganismo en zonas anatómicas complejas puede favorecer la persistencia de la inflamación periapical, al permanecer en contacto directo con los

tejidos perirradiculares, comprometiendo la reparación tisular y el pronóstico del tratamiento endodóntico (Siqueira y Rôças, 2008, pp. 1293-1294). Por ello, comprender su mecanismo de supervivencia resulta fundamental para el desarrollo de estrategias de desinfección intracanal más eficaces.

En la práctica clínica, el hidróxido de calcio ha sido ampliamente utilizado como medicación intracanal debido a su acción antimicrobiana, atribuida principalmente a la liberación de iones hidroxilo y a la elevación del pH a niveles altamente alcalinos, creando un ambiente desfavorable para la supervivencia de numerosos microorganismos (Siqueira y Lopes, 1999, pp. 361-362). No obstante, estudios han mostrado que la eficacia antimicrobiana de este material puede verse influenciada por factores como la solubilidad del compuesto, la difusión iónica y el tiempo de contacto, lo que condiciona su capacidad para eliminar las bacterias resistentes como *Enterococcus faecalis* (Kim y Kim, 2014, p. 245). Asimismo, se ha observado que su desempeño varía en función de la formulación empleada y de su combinación con otros agentes (Teja et al., 2023, p. 4).

Debido a estas limitaciones, surge la necesidad de explorar agentes alternativos con mayor capacidad antibacteriana y antibiofilm que permitan optimizar la desinfección del sistema de conductos radiculares.

En este contexto, la N-acetilcisteína es un derivado de la cisteína utilizado clínicamente como agente mucolítico y precursor del glutatión, con reconocidas propiedades antioxidantes. Aunque no es un antibiótico, presenta actividad antimicrobiana y ha demostrado capacidad para desorganizar biofilms bacterianos de patógenos, por lo que respalda su potencial en el ámbito oral (Pei et al., 2018, p. 1). De hecho, se ha señalado que la NAC puede disminuir la formación

de biofilm y reducir la matriz extracelular bacteriana y además facilita la penetración de agentes antibacterianos (Dinicola et al., 2014, pp.2942 -2943)

Estudios *in vitro* han demostrado que la N-acetilcisteína inhibe la formación de biofilms y es capaz de desestructurar biofilms maduros adheridos a superficies dentinarias, lo que se traduce en una reducción significativa de la viabilidad bacteriana (Moon et al., 2016, pp. 324-326). De manera consistente, se ha reportado su eficacia en la eliminación de biofilms endodónticos multiespecies, observándose una marcada disminución de la carga bacteriana y alteraciones estructurales de la matriz del biofilm, dependiendo del modelo experimental y del método de evaluación empleado (Choi et al., 2018, pp. 185-187). En concordancia, una revisión de alcance reciente sintetiza la evidencia experimental que respalda la eficacia antimicrobiana y antibiofilm de la N-acetilcisteína, señalando resultados comparables o superiores a los agentes tradicionales utilizados en endodoncia, lo que destaca su potencial como alternativa para la desinfección del sistema de conductos radiculares (Abdulrab et al., 2022, pp. 18-22).

Bajo este marco teórico, evaluar la N-acetilcisteína (NAC), el hidróxido de calcio y su combinación podría representar una estrategia de interés para superar la resistencia bacteriana y mejorar el pronóstico de los tratamientos endodónticos.

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana mediante la medición de halos de inhibición en ensayos *in vitro*, para comparar la eficacia de la N-acetilcisteína (NAC), el hidróxido de calcio y su combinación frente a *Enterococcus faecalis*. A partir de este planteamiento surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Puede la N-acetilcisteína, sola o en combinación con hidróxido de calcio, presentar un mayor efecto inhibitorio frente a *Enterococcus faecalis* que el hidróxido de calcio, en un modelo *in vitro*?

Materiales Y Métodos

Diseño De Estudio

Se realizó un estudio experimental comparativo *in vitro* para evaluar la eficacia de diferentes compuestos frente a la cepa estándar de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de la Universidad de Los Hemisferios, previa aprobación del Comité de Ética y autorización formal para el uso de laboratorio.

Cálculo De La Muestra Para El Estudio

El estudio se realizó utilizando 24 cajas de Petri, evaluadas en tres tiempos experimentales: 24, 48 y 72 horas, analizando los mismos pozos en cada intervalo para observar la evolución temporal del efecto de los compuestos.

De las 24 cajas, 4 contenían cuatro pozos cada una (tres correspondientes a los tratamientos experimentales y uno destinado al control negativo con glicerina), mientras que las 20 cajas restantes contenían tres pozos por caja. En total se obtuvieron 76 pozos, de los cuales 72 correspondieron a los tratamientos experimentales y 4 a los controles negativos. Cada pozo se consideró una unidad experimental, anidada dentro de cada caja de Petri.

La selección de 24 cajas de Petri se basó en estudios previos con metodologías similares de difusión en agar, y en variabilidad esperada en este tipo de análisis microbiológicos, con el fin de obtener un número adecuado de réplicas para la comparación experimental.

Elaboración Del Agar

El medio de cultivo fue agar bilis esculina (BEA) (HiMedia, Mumbai, Maharashtra, India). Para la preparación de las cajas de Petri, se dispensaron 30 mL de medio por placa,

obteniéndose un volumen inicial de 180 mL para seis cajas, el cual fue ajustado a 200 mL para la preparación del medio de cultivo inicial.

El medio de cultivo se preparó siguiendo las indicaciones del fabricante, quien recomienda una concentración de 63,5 g de agar BEA por cada 1000 mL de agua destilada; en función de esta proporción, se utilizaron 12,7 g de agar BEA para el volumen preparado.

Antes del pesaje, se verificó que la balanza electrónica (Traveler, Ohaus, EE. UU.) estuviera nivelada sobre una superficie estable. Posteriormente, se colocó una bandeja plástica desechable para pesar con precisión el agar en polvo.

El volumen de agua destilada requerido se midió con una probeta graduada; luego se transfirió a un frasco de vidrio con tapa roscada, previamente rotulado. Posteriormente, se añadió el polvo de agar, se mezcló mediante movimientos envolventes suaves hasta obtener una preparación homogénea. El medio de cultivo fue esterilizado en autoclave vertical a 121 °C durante 60 minutos, de acuerdo con el protocolo operativo del laboratorio. Posteriormente, se dejó enfriar parcialmente antes de ser dispensado en las cajas de Petri. Este procedimiento se repitió en diferentes momentos del estudio, manteniendo constantes las condiciones de preparación y esterilización del medio, hasta completar las 24 cajas necesarias para el estudio.

Dispensación Del Agar

Se utilizaron cajas de Petri desechables, las cuales fueron colocadas en una cámara de flujo laminar y sometidas a desinfección superficial mediante exposición a la luz ultravioleta durante 20 minutos. El agar se dispensó cuidadosamente dentro de la cámara, utilizando una jeringa de 100 mL para asegurar la precisión del volumen, distribuyéndose aproximadamente 30 mL por caja de Petri.

Una vez solidificado el medio, las cajas se rotularon indicando el tipo de agar, la fecha y el responsable del procedimiento. Las cajas fueron almacenadas en una funda hermética rotulada y conservadas en refrigeración hasta su uso.

Procedimiento De Siembra E Inoculación Bacteriana

La cepa estándar *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) fue proporcionada por el laboratorio de la Universidad, previamente sembrada y rejuvenecida a partir de un cultivo inicial.

Posteriormente, en la cámara de flujo laminar y sobre una superficie limpia y aséptica, se procedió a tomar una colonia de la caja previamente sembrada para inocularla en una caja de Petri preparada con agar bilis esculina (BEA).

La siembra se realizó mediante la técnica de estrías. Primero, se trazó una línea inicial para depositar la muestra sobre la superficie del agar. A partir de esta línea, se realizaron estrías en zigzag hasta cubrir aproximadamente un tercio de la caja de Petri. Luego, se giró el asa y, desde las estrías ya sembradas, se continuó con el proceso, realizando cuatro grupos adicionales de cinco estrías cada uno, girando la caja progresivamente en cada sección. Este procedimiento aseguró una distribución uniforme del inóculo y favoreció el crecimiento bacteriano en condiciones controladas.

Para evitar la condensación de partículas de agua que pudiera dañar o diluir la muestra, la placa inoculada se colocó invertida en una incubadora marca BIOBASE y se incubó a 37,5 °C durante 24 horas. Esto permitió garantizar la viabilidad del microorganismo y descartar la presencia de contaminantes antes de realizar los ensayos experimentales.

Preparación De La Suspensión Bacteriana Según El Estándar McFarland

Se utilizó el patrón visual de McFarland 0,5 para estandarizar la concentración del inóculo bacteriano, garantizando una suspensión con la densidad óptica adecuada para la siembra bacteriana.

Se rotuló un tubo de ensayo estéril de 10 mL, indicando el nombre del microorganismo (*Enterococcus faecalis*), las iniciales del responsable, la fecha y la referencia al patrón McFarland 0,5, y se colocó sobre la gradilla. Posteriormente, se añadieron 6 mL (6000 µL) de agua destilada estéril al tubo, y el tubo se mantuvo en la gradilla.

Con la ayuda de un asa metálica previamente calentada al rojo vivo y enfriada, se tomaron siete colonias de *Enterococcus faecalis* previamente sembradas. Estas se introdujeron cuidadosamente en el tubo. El asa se agitó suavemente dentro del líquido para desprender las colonias, posteriormente se retiró y se flameó nuevamente al rojo vivo para garantizar la desinfección.

Finalmente, la turbidez de la suspensión se ajustó cuidadosamente mediante comparación visual frente a un fondo lineado, lo que permitió identificar si la suspensión estaba demasiado clara (indicando una concentración insuficiente) o demasiado turbia (indicando una concentración excesiva).

Una vez obtenida la turbidez equivalente al patrón McFarland 0,5, la suspensión se consideró estandarizada y lista para su uso en los ensayos experimentales, manteniendo condiciones asépticas durante todo el procedimiento.

Siembra De La Suspensión Bacteriana En Agar

Una vez ajustado el patrón McFarland 0,5 y rotulada cada caja, el procedimiento se realizó frente a un mechero encendido para garantizar condiciones de esterilidad. Con una micropipeta se tomaron 100 μ L de la suspensión previamente preparada.

La suspensión se depositó en el centro de la superficie del agar y la punta desechable utilizada se eliminó inmediatamente en un recipiente para descarte.

Posteriormente, con el asa de Drigalski previamente esterilizada mediante inmersión en alcohol, paso por la llama y posterior enfriamiento), se procedió a distribuir la suspensión de manera uniforme sobre toda la superficie del agar. Este protocolo se aplicó de forma idéntica en cada una de las cajas incluidas en el estudio.

Preparación De Los Pozos En El Medio De Cultivo

Con un mechero Bunsen encendido para mantener condiciones asépticas, las cajas de Petri se colocaron frente a la llama y se destaparon cuidadosamente; con la ayuda de una punta descartable de micropipeta con la parte ancha, se realizaron tres o cuatro pozos previamente marcados (\approx 6 mm de diámetro), según la distribución experimental en cada caja. Los pozos se realizaron equidistantes entre sí y a una distancia uniforme del borde de la placa, para estandarizar la difusión de los materiales. Posteriormente, con un asa metálica previamente calentada al rojo vivo y enfriada, se retiraron los residuos de agar previamente cortados, asegurando una perforación limpia y estéril.

Una vez listos los pozos, se dispensaron 10 μ L de agar bilis esculina (BEA) previamente fundido y enfriado a aproximadamente 45 °C en el fondo de cada pozo. Esta fina capa de agar

semilíquido sirvió como base para los tratamientos, evitando la dispersión del material experimental sobre la superficie del medio y garantizando una delimitación precisa del área de aplicación, sin alterar la integridad del agar ni comprometer la muestra.

Preparación Y Dosificación De Los Materiales Experimentales

Todos los polvos empleados en las formulaciones fueron pesados previamente con una balanza analítica de precisión Galaxy HR-250AZ (SHS). Para el procedimiento, cada sustancia se colocó en una bandeja plástica descartable para pesaje de laboratorio y, con la ayuda de una espátula estéril, se transfirieron cuidadosamente los polvos a la balanza para obtener la cantidad exacta requerida para cada mezcla, garantizando así una medición precisa.

Se decidió trabajar empleando una proporción de 0,6 g de polvo y 0,8 mL de glicerina. En el caso de formulaciones que combinaban dos polvos y un líquido, se utilizó una proporción de 0,6:0,6:1,6 (g:g:mL) de glicerina, establecida con el fin de obtener mezclas homogéneas, de consistencia intermedia, que facilitaron su aplicación sobre el medio de cultivo sin causar dispersión ni exceso de densidad.

Se empleó glicerina de la marca Laturi (frasco de 100 mL), utilizada como agente humectante y vehículo para la preparación de las mezclas experimentales. Cada mezcla se preparó en las proporciones previamente descritas, asegurando una textura uniforme y adecuada para su dispensación. Posteriormente, la mezcla resultante fue cargada en una jeringa estéril de 3 mL, de la cual se dispensaron 0,15 mL (1,5 líneas) de la sustancia en los pozos del medio de cultivo, garantizando un volumen homogéneo en cada aplicación.

Las formulaciones se prepararon tantas veces como fueran necesarias, manteniendo constantes las proporciones y el volumen aplicado en cada pozo.

De esta manera, se aseguró la homogeneidad, la precisión y la reproducibilidad en la aplicación de los tratamientos en cada ensayo experimental.

El hidróxido de calcio se consideró el grupo de referencia (control positivo) por su actividad antimicrobiana conocida y se comparó con NAC y $\text{Ca(OH)}_2 + \text{NAC}$. La glicerina se utilizó como control negativo en pozos independientes para confirmar que el vehículo no presentaba actividad antibacteriana; la presencia de un halo habría indicado interferencia del vehículo.

Fichas De Recolección De Datos

La recolección de datos se realizó de forma manual y visual, registrando el diámetro del halo de inhibición (mm) de *Enterococcus faecalis* en una ficha de observación para cada compuesto experimental. El procedimiento se llevó a cabo sobre una mesa luminosa limpia y aséptica, con un mechero de Bunsen encendido para garantizar un ambiente estéril, trabajando siempre cerca de este.

La primera lectura de las placas se realizó a las 24 horas, verificando que no existieran contaminantes ni alteraciones en las cajas de Petri del estudio. Con la ayuda de un calibrador digital Vernier marca Truper, se realizó la primera medición y se efectuaron dos mediciones adicionales por pozo para mejorar la precisión y reducir el margen de error. El diámetro de la zona de inhibición se midió en milímetros (mm) considerando el diámetro del halo e incluyendo el diámetro del pozo.

Las mediciones posteriores de los halos de inhibición se realizaron a las 48 y 72 horas, lo que permitió un seguimiento adecuado del efecto de los compuestos evaluados. Entre cada punto

de medición, las placas se almacenaron a 37,5 °C y se retiraron únicamente para la lectura de los halos, retomándolas inmediatamente a la incubadora para mantener condiciones constantes.

Eliminación De Las Muestras

Debido a que las cajas de Petri utilizadas eran de material plástico, se procedió a su desinfección mediante inmersión, para lo cual se llenó una bandeja plástica hasta dos tercios de su volumen con hipoclorito de sodio al 5,25 %.

Las cajas se mantuvieron en la solución durante un período de 24 horas para asegurar la eliminación del microorganismo estudiado.

Posteriormente, las cajas de Petri fueron desechadas en una bolsa roja debidamente rotulada, cumpliendo con las normas de bioseguridad establecidas para residuos biológicos.

Resultados

Pruebas De Normalidad De Los Halos De Inhibición (mm)

Tabla 1

Análisis Estadístico: Pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov / Shapiro-Wilk

TIEMPOS	SUSTANCIAS	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
24 horas	Ca(OH) ₂	0,185	24	0,032	0,889	24	0,013
	NAC	0,165	24	0,090	0,948	24	0,242
	Ca(OH) ₂ + NAC	0,126	24	0,200	0,921	24	0,063
48 horas	Ca(OH) ₂	0,221	24	0,004	0,811	24	0,000
	NAC	0,214	24	0,006	0,760	24	0,000
	Ca(OH) ₂ + NAC	0,138	24	0,200	0,935	24	0,123
72 horas	Ca(OH) ₂	0,399	24	0,000	0,503	24	0,000
	NAC	0,197	24	0,016	0,938	24	0,144
	Ca(OH) ₂ + NAC	0,081	24	0,200	0,990	24	0,997

Fuente: Elaboración propia

Se evaluó la distribución de los datos mediante pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk). Debido a que parte de las variables presentó valores de significación $p < 0,05$, se determinó que no todas las muestras seguían una distribución normal. Por ello, el análisis principal se realizó con la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras relacionadas. De manera complementaria, se reportó la prueba t de Student para muestras emparejadas como contraste. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

Comparación Entre Las Muestras A Las 24 Horas

Tabla 2

Comparación de sustancias a las 24 horas mediante la prueba de Wilcoxon y t de Student.

Comparaciones 2 a 2		N	Media (mm)	Desviación estándar	Wilcoxon (p)	t de Student (p)
Par 1	Ca(OH) ₂	24	20,71	0,42	0,000	0,000
	NAC	24	16,57	0,21		
Par 2	Ca(OH) ₂	24	20,71	0,42	0,000	0,000
	Ca(OH) ₂ + NAC	24	16,61	0,30		
Par 3	NAC	24	16,57	0,21	0,304	0,532
	Ca(OH) ₂ + NAC	24	16,61	0,30		

Fuente: Elaboración propia

A las 24 horas de evaluación, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los compuestos evaluados. El hidróxido de calcio presentó los mayores halos de inhibición frente a *Enterococcus faecalis*, en comparación con la N-acetilcisteína y con la combinación Ca(OH)₂ + NAC ($p < 0,05$). Estos hallazgos fueron consistentes al aplicar pruebas relacionadas (Wilcoxon y t de Student), según se reporta en la tabla.

En contraste, la N-acetilcisteína y su combinación $\text{Ca(OH)}_2 + \text{NAC}$ mostraron valores de inhibición similares entre sí, sin diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Esto sugiere que, a las 24 horas, la combinación $\text{Ca(OH)}_2 + \text{NAC}$ no incrementó el halo inhibitorio respecto a NAC utilizada de forma individual.

El control negativo (glicerina) se utilizó para verificar la ausencia del efecto antibacteriano del vehículo; sus resultados no se incluyeron en el análisis comparativo debido a que no formó parte de los grupos experimentales evaluados estadísticamente.

Comparación Entre Las Muestras A Las 48 Horas

Tabla 3

Comparación de sustancias a las 48 horas mediante la prueba de Wilcoxon y t de Student.

Comparaciones 2 a 2		N	Media (mm)	Desviación estándar	Wilcoxon (p)	t de Student (p)
Par 1	Ca(OH)_2	24	20,61	0,47	0,000	0,000
	NAC	24	15,65	0,34		
Par 2	Ca(OH)_2	24	20,61	0,47	0,000	0,000
	$\text{Ca(OH)}_2 + \text{NAC}$	24	15,41	0,19		
Par 3	NAC	24	15,65	0,34	0,007	0,013
	$\text{Ca(OH)}_2 + \text{NAC}$	24	15,41	0,19		

Fuente: Elaboración propia

A las 48 horas de evaluación, el hidróxido de calcio presentó los mayores halos de inhibición frente a *Enterococcus faecalis*, evidenciando una mayor actividad antibacteriana en comparación con la N-acetilcisteína y con la combinación $\text{Ca(OH)}_2 + \text{NAC}$ ($p < 0,05$).

Asimismo, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la N-acetilcisteína y la combinación $\text{Ca(OH)}_2 + \text{NAC}$, siendo la N-acetilcisteína la que mostró mayores halos de inhibición ($p < 0,05$).

Estos resultados indican que, a las 48 horas, la combinación con NAC no potenció el efecto inhibitorio del hidróxido de calcio y presentó valores inferiores incluso respecto a la N-acetilcisteína utilizada de forma individual.

Comparación Entre Las Muestras A Las 72 Horas

Tabla 4

Comparación de sustancias a las 72 horas mediante la prueba de Wilcoxon y t de Student.

Comparaciones 2 a 2		N	Media (mm)	Desviación estándar	Wilcoxon (p)	t de Student (p)
Par 1	Ca(OH) ₂	24	20,29	1,46	0,000	0,000
	NAC	24	15,55	0,21		
Par 2	Ca(OH) ₂	24	20,29	1,46	0,000	0,000
	Ca(OH) ₂ + NAC	24	15,44	0,15		
Par 3	NAC	24	15,55	0,21	0,076	0,061
	Ca(OH) ₂ + NAC	24	15,44	0,15		

Fuente: Elaboración propia

A las 72 horas de evaluación, el hidróxido de calcio presentó mayores halos de inhibición frente a *Enterococcus faecalis*, en comparación con la N-acetilcisteína y con la combinación de Ca(OH)₂ + NAC ($p < 0,05$), mostrando el mayor efecto inhibitorio en este tiempo. .

En contraste, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre la N-acetilcisteína y la combinación Ca(OH)₂ + NAC ($p > 0,05$), lo que indica valores de inhibición similares entre ambos compuestos.

Estos resultados sugieren que, a las 72 horas, la incorporación de NAC no potenció el efecto inhibitorio del hidróxido de calcio, manteniéndose una actividad comparable a la NAC utilizada de forma individual.

Comparación entre 24 horas, 48 horas y 72 horas en cada una de las sustancias (cómo cambia cada sustancia en el tiempo)

Hidróxido de Calcio (Ca(OH)₂).

Tabla 5

Comparación temporal del hidróxido de calcio (Ca(OH)₂) a las 24, 48 y 72 horas mediante pruebas de Wilcoxon y t de Student (Valores medios \pm desviación estándar y diferencias entre tiempos).

Comparaciones 2 a 2		N	Media (mm)	Desviación estándar	Wilcoxon (p)	t de Student (p)
Par 1	24 horas	24	20,71	0,42	0,021	0,134
	48 horas	24	20,61	0,47		
Par 2	24 horas	24	20,71	0,42	0,019	0,157
	72 horas	24	20,29	1,46		
Par 3	48 horas	24	20,61	0,47	0,157	0,274
	72 horas	24	20,29	1,46		

Fuente: Elaboración propia

El hidróxido de calcio presentó una ligera disminución progresiva en el tamaño del halo de inhibición a lo largo del tiempo de evaluación. Al comparar las mediciones temporales, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las 24 y 48 horas, así como entre las 24 y 72 horas ($p < 0,05$), registrándose los mayores valores de inhibición a las 24 horas.

En contraste, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre las mediciones realizadas a las 48 y 72 horas ($p > 0,05$), lo que indica que el efecto antibacteriano

del hidróxido de calcio se mantuvo relativamente estable después de las 48 horas. Los resultados se representan con pruebas para muestras relacionadas (Wilcoxon y t de Student), según corresponde.

N-acetilcisteína (NAC).

Tabla 6

Comparación temporal de N-acetilcisteína (NAC) a las 24, 48 y 72 horas mediante pruebas de Wilcoxon y t de Student (Valores medios \pm desviación estándar y diferencias entre tiempos).

Comparaciones 2 A 2	N	Media (mm)	Desviación Estándar	Wilcoxon (p)	t de Student (p)
Par 1	24 horas 24	16,57	0,21	0,000	0,000
	48 horas 24	15,65	0,34		
Par 2	24 horas 24	16,57	0,21	0,000	0,000
	72 horas 24	15,55	0,21		
Par 3	48 horas 24	15,65	0,34	0,259	0,190
	72 horas 24	15,55	0,21		

Fuente: Elaboración propia

La N-acetilcisteína mostró una disminución gradual en el tamaño del halo de inhibición a lo largo del tiempo. Al comparar las mediciones temporales, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las 24 y 48 horas, así como entre las 24 y 72 horas ($p < 0,05$), evidenciándose los mayores valores a las 24 horas.

En contraste, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre las mediciones realizadas a las 48 y 72 horas ($p > 0,05$), lo que indica que la actividad antibacteriana de la N-acetilcisteína se mantuvo relativamente estable después de 48 horas. Las comparaciones

se reportan mediante pruebas para muestras relacionadas (Wilcoxon y t de Student), según se muestra en la tabla.

Ca(OH)₂ + NAC.

Tabla 7

Comparación temporal de la combinación Ca(OH)₂ + NAC a las 24, 48 y 72 horas mediante pruebas de Wilcoxon y t de Student. (Valores medios ± desviación estándar y diferencias entre tiempos).

Comparaciones	N	Media	Desviación	Wilcoxon (p)	t de Student (p)
2 A 2		(mm)	Estándar		
Par 1	24 horas 24	16,61	0,30	0,000	0,000
	48 horas 24	15,41	0,19		
Par 2	24 horas 24	16,61	0,30	0,000	0,000
	72 horas 24	15,44	0,15		
Par 3	48 horas 24	15,41	0,19	0,568	0,573
	72 horas 24	15,44	0,15		

Fuente: Elaboración propia.

La combinación de *Ca(OH)₂ + NAC* mostró una disminución gradual en el tamaño del halo de inhibición a lo largo del tiempo de evaluación. Al comparar las mediciones temporales, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las 24 y 48 horas, así como entre las 24 y 72 horas ($p < 0,05$), registrándose los mayores halos de inhibición a las 24 horas.

En contraste, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre las mediciones realizadas a las 48 y 72 horas ($p > 0,05$), lo que indica la actividad antibacteriana de

la combinación se mantuvo relativamente estable después de las 48 horas. Los resultados se presentan mediante pruebas para muestras relacionadas (Wilcoxon y t de Student).

**Resumen General De Las Medias \pm Desviación Estándar De Los Halos De Inhibición (Mm)
Para Todas Las Sustancias En Los Tres Tiempos De Evaluación**

Tabla 8

Resumen de tabla estadística de muestras emparejadas

Sustancias	24 Horas	48 Horas	72 Horas
Ca(OH) ₂	20,71	20,61	20,29
NAC	16,57	15,65	15,55
Ca(OH) ₂ + NAC	16,61	15,41	15,44

Fuente: Elaboración propia.

El análisis comparativo general del comportamiento temporal de las sustancias evaluadas, el hidróxido de calcio presentó consistentemente mayores halos de inhibición frente a *Enterococcus faecalis* en todos los tiempos de evaluación, aunque con una ligera disminución progresiva.

La N-acetilcisteína y la combinación Ca(OH)₂ + NAC mostraron valores de inhibición similares entre sí y consistentemente inferiores al hidróxido de calcio, con una disminución leve y un comportamiento estable a partir de las 48 horas.

Discusión

El hidróxido de calcio presentó los mayores valores de halo de inhibición en los tres tiempos evaluados, lo que concuerda con su reconocida acción antimicrobiana en modelos *in vitro* de difusión en agar. Este comportamiento se atribuye principalmente a su elevado pH y a la liberación de iones hidroxilo, los cuales generan un ambiente desfavorable para la supervivencia bacteriana mediante la alteración de las membranas celulares y la desnaturalización de las proteínas bacterianas (Gomes et al., 2002, p. 156). No obstante, aunque su eficacia antimicrobiana ha sido documentada, una revisión sistemática evidenció que el hidróxido de calcio continúa siendo uno de los medicamentos intracanal más utilizados; sin embargo, su capacidad para eliminar completamente las bacterias de los conductos radiculares es limitada cuando se evalúa mediante técnicas de cultivo (Sathorn et al., 2007, p. 8).

Asimismo, se ha documentado que *Enterococcus faecalis* puede resistir condiciones altamente alcalinas, especialmente cuando se encuentra en fase estacionaria o sometida a estrés nutricional, lo que restringe la acción antimicrobiana prolongada de este material (Portenier et al., 2003, pp. 140-141). Estos hallazgos fueron consistentes con los resultados estadísticos obtenidos mediante pruebas para muestras relacionadas (Wilcoxon y t de Student), donde se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p < 0,05$).

De manera concordante, se ha reportado que el hidróxido de calcio presenta mayor actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* en comparación con otros medicamentos evaluados mediante ensayos *in vitro*, evidenciado por mayores zonas de inhibición en agar, lo que respalda los resultados obtenidos en el presente estudio (Govindaraju et al., 2021, S158).

El análisis temporal evidenció una disminución progresiva del efecto antibacteriano del hidróxido de calcio entre las 24 y 72 horas, reflejada en la reducción del diámetro de los halos de inhibición. Este comportamiento puede explicarse considerando que la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio depende de la disociación en iones hidroxilo, los cuales elevan el pH del medio a niveles altamente alcalinos; además, estudios experimentales han demostrado que la liberación de iones y el mantenimiento del pH alcalino pueden variar con el tiempo y según las características fisicoquímicas del sistema, influyendo directamente en la actividad del material (Carvalho et al., 2016, p. 329). En este sentido, los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que el mayor efecto inhibitorio observado a las 24 horas podría relacionarse con una mayor disponibilidad inicial de iones hidroxilo, mientras que la disminución registrada a las 48 y 72 horas refleja una reducción progresiva de su efecto antibacteriano.

En el presente estudio, la N-acetilcisteína mostró halos de inhibición bacteriana menores en comparación con el hidróxido de calcio en todos los tiempos evaluados, aunque con una actividad relativamente estable a lo largo del periodo de análisis. Estos resultados indican que la NAC presenta una actividad antimicrobiana moderada en condiciones *in vitro*, sin alcanzar la eficacia antimicrobiana observada para el hidróxido de calcio. Estos hallazgos pueden explicarse considerando que la N-acetilcisteína ha demostrado una mayor eficacia en la inhibición y destrucción de biofilms de *Enterococcus faecalis*, más que en la eliminación de bacterias en estado planctónico, lo que podría limitar su desempeño en modelos de difusión en agar utilizados para evaluar halos de inhibición (Quah et al., 2012, pp.83-84).

En los ensayos de difusión en agar, el tamaño del halo de inhibición no depende únicamente de la potencia antimicrobiana del agente, sino también de su capacidad de difusión en el medio, y sus propiedades fisicoquímicas, como la solubilidad y la viscosidad del compuesto

en el agar (Balouiri et al., 2016, pp. 72-74). Asimismo, se ha descrito que los resultados pueden variar según el tipo de técnica empleada (disco o pozo), debido a diferencias en la forma de liberación y difusión del agente en el medio, lo que puede modificar la magnitud de las zonas de inhibición observadas (Valgas et al., 2007, pp. 371-372). En el caso de medicamentos evaluados mediante este tipo de ensayos, el vehículo usado también influye en la liberación y difusión del principio activo; los compuestos como glicerina, propilenglicol, polietilenglicol pueden modificar el comportamiento de las sustancias en pruebas de difusión en agar (Nalawade et al., 2016, pp. 336-338)

En cuanto a la combinación de Ca(OH)_2 + N-acetilcisteína, los resultados no evidenciaron un efecto sinérgico estadísticamente significativo en la actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis*, evaluada mediante la medición de los halos de inhibición. Los valores observados fueron comparables a los de la NAC utilizada de forma individual, sin observarse un incremento significativo en los tres tiempos analizados. Estos resultados pueden interpretarse considerando que la N-acetilcisteína ha sido descrita como un agente con actividad antimicrobiana limitada en comparación con el hidróxido de calcio, cuya acción se orienta a la interferencia con la estructura del biofilm y la adhesión bacteriana, más que a un efecto bactericida directo frente a *E. faecalis* (Ulusoy et al., 2016, pp. 214-216).

Conclusiones

En las condiciones *in vitro* evaluadas, el hidróxido de calcio presentó la mayor actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* en todos los tiempos analizados, evidenciada por los mayores diámetros de halos de inhibición.

La actividad antibacteriana del hidróxido de calcio mostró una disminución progresiva entre las 24 y 72 horas, lo que indica que su efecto inhibitorio es más pronunciado en las fases iniciales de contacto con el microorganismo.

La N-acetilcisteína presentó una actividad antibacteriana moderada frente a *Enterococcus faecalis*, con halos de inhibición de menor magnitud en comparación con el hidróxido de calcio, pero con un comportamiento relativamente estable a lo largo del tiempo.

La combinación del hidróxido de calcio con la N-acetilcisteína no evidenció un efecto sinérgico en la actividad antibacteriana, ya que los valores obtenidos fueron comparables a los de la N-acetilcisteína utilizada de forma individual en los tres tiempos evaluados.

En conjunto, los resultados del presente estudio indican que el hidróxido de calcio continúa siendo el material con mayor eficacia dentro del modelo experimental empleado, mientras que la NAC no aportó una ventaja adicional cuando se utilizó en combinación con este compuesto.

Limitaciones

El presente estudio presenta las limitaciones que deben considerarse al interpretar los resultados. Al tratarse de un estudio *in vitro*, las condiciones experimentales no reproducen completamente el entorno clínico del sistema de conductos radiculares, donde intervienen múltiples factores biológicos y fisicoquímicos. Asimismo, la actividad antibacteriana fue evaluada mediante la prueba de difusión en agar, la cual depende de la capacidad de difusión de los materiales en el medio y no permite diferenciar entre un efecto bactericida y bacteriostático. Además, la evaluación se realizó exclusivamente frente a *Enterococcus faecalis* en su forma planctónica, sin considerar biofilms maduros, que presentan una mayor resistencia y relevancia

clínica. Finalmente, no se analizaron posibles efectos citotóxicos ni la interacción con los tejidos periapicales, por lo que los resultados no deben extrapolarse directamente a la práctica clínica.

Recomendaciones

Se recomienda que futuros estudios utilicen modelos experimentales distintos al de difusión en agar, con el fin de evaluar la actividad antibacteriana de los materiales en condiciones más cercanas al entorno clínico. Asimismo, se sugiere incorporar metodologías específicas para la evaluación de biofilms y ampliar el análisis mediante diferentes concentraciones y tiempos de exposición en otros modelos experimentales.

Referencias

- Abdulrab, S., Mostafa, N., Al-Maweri, S.A., Abada, H., Halboub, E., & Alhadainy, H.A. (2022). *Antibacterial and anti-inflammatory efficacy of N-acetyl cysteine in endodontic treatment: a scoping review*. *BMC Oral Health*, 22(1), 398. Recuperado de <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02433-6>.
- Alghamdi, F., & Shakir, M. (2020). *The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review*. *Cureus*, 12(3), e7257. Recuperado de <https://doi.org/10.7759/cureus.7257>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71–79. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Carvalho, C. N., Freire, L. G., Carvalho, A. P., Duarte, M. A., Bauer, J., & Gavini, G. (2016). *Ions Release and pH of Calcium Hydroxide-, Chlorhexidine- and Bioactive Glass-Based Endodontic Medicaments*. *Brazilian Dental Journal*, 27(3), 325–331. Recuperado de <https://doi.org/10.1590/0103-6440201600602>
- Choi, Y.S., Kim, C., Moon, J.H., & Lee, J.Y. (2018). *Removal and killing of multispecies endodontic biofilms by N-acetylcysteine*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(1), 184-188. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.04.003>
- Dinicola, S., De Grazia, S., Carlomagno, G., & Pintucci, J. P. (2014). N-acetylcysteine as powerful molecule to destroy bacterial biofilms. A systematic review. *European*

review for medical and pharmacological sciences, 18(19), 2942–2948.

Recuperado de <https://www.europeanreview.org/article/7903>

Gomes, B.P.F.A., Ferraz, C.C.R., Vianna, M.E., Rosalen, P.L., Zaia, A.A., Teixeira, F.B., Souza-Filho, F.J. (2002). *In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms*. *Brazilian Dental Journal*, 13(3),155-161. Recuperado de <https://doi.org/10.1590/s0103-64402002000300002>

Govindaraju, L., Jenarathanan, S., Subramanyam, D., & Ajitha, P. (2021). *Antibacterial Activity of Various Intracanal Medicament against Enterococcus faecalis, Streptococcus mutans and Staphylococcus aureus: An In vitro Study*. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 13(Suppl 1), S157–S161. Recuperado de https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_623_20

Jayakumar, S., Sridhar, D., John, B.M., Arumugam, K., Ponnusamy, P., & Pulidindi, H. (2024). *Biofilm in Endodontic Infection and its Advanced Therapeutic Options; An Updated Review*. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 16(Suppl 2),S1104-S1109. Recuperado de https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_394_23.

Jhajharia, K., Parolia, A., Shetty, K. V., & Mehta, L. K. (2015). *Biofilm in endodontics: A review*. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 5(1), 1-12. Recuperado de <https://doi.org/10.4103/2231-0762.151956>

Kim, D. & Kim, E. (2014). *Antimicrobial effect of calcium hydroxide as an intracanal medicament in root canal treatment: a literature review - Part I. In vitro studies*.

Restorative Dentistry and Endodontics, 39(4), 241-252. Recuperado de <https://doi.org/10.5395/rde.2014.39.4.241>

Nalawade, T. M., Bhat, K. G., & Sogi, S. (2016). Antimicrobial Activity of Endodontic Medicaments and Vehicles using Agar Well Diffusion Method on Facultative and Obligate Anaerobes. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 9(4), 335–341. Recuperado de <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1388>

Moon, J.H., Choi, Y.S., Lee, H.W., Heo, J.S., Chang, S.W., & Lee, J.Y. (2016). *Antibacterial effects of N-acetylcysteine against endodontic pathogens. Journal of Microbiology*, 54(4), 322-9. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s12275-016-5534-9>

Pei, Y., Liu, H., Yang, Y., Yang, Y., Jiao, Y., Tay, F. R., & Chen, J. (2018). Biological Activities and Potential Oral Applications of N-Acetylcysteine: Progress and Prospects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 2835787. Recuperado de <https://doi.org/10.1155/2018/2835787>

Portenier, I., Waltimo, T. M. T., & Haapasalo, M. (2003). *Enterococcus faecalis – the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. Endodontic Topics*, 6(1), 135–159. Recuperado de <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2003.00040.x>

Quah, S. Y., Wu, S., Lui, J. N., Sum, C. P., & Tan, K. S. (2012). N-acetylcysteine inhibits growth and eradicates biofilm of *Enterococcus faecalis*. *Journal of endodontics*, 38(1), 81–85. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.10.004>

- Sathorn, C., Parashos, P., & Messer, H. (2007). Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and meta-analysis. *International endodontic journal*, 40(1), 2–10. Recuperado de <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2006.01197.x>
- Siqueira, J. F., Jr, y Lopes, H. P. (1999). Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International endodontic journal*, 32(5), 361–369. Recuperado de <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.1999.00275.x>
- Siqueira, J. F., Jr, & Rôças, I. N. (2008). Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *Journal of endodontics*, 34(11), 1291–1301.e3. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.07.028>
- Stuart, C. H., Schwartz, S. A., Beeson, T. J., & Owatz, C. B. (2006). *Enterococcus faecalis* : its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of endodontics*, 32(2), 93–98. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.10.049>
- Teja, K. V., Janani, K., Srivastava, K. C., Shrivastava, D., Natoli, V., Di Blasio, M., Cicciu, M., & Minervini, G. (2023). Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of different combinations of calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* . *BMC Oral Health*, 23(1), 849. Recuperado de <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03552-4>
- Ulusoy, A. T., Kalyoncuoğlu, E., Reis, A., & Cehreli, Z. C. (2016). Antibacterial effect of *N-acetylcysteine and taurolidine on planktonic and biofilm forms of Enterococcus faecalis*. *Dental traumatology: Official publication of International Association*

for Dental Traumatology, 32(3), 212–218. Recuperado de <https://doi.org/10.1111/edt.12237>

Valgas, C., Souza, S.M., Smânia, E. F. & Smânia, A. (2007). Métodos de cribado para determinar la actividad antibacteriana de productos naturales. *Revista Brasileira de Microbiología*, 38, 369-380. Recuperado de <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200034>

Zou, X., Zheng, X., Liang, Y., Zhang, C., Fan, B., Liang, J., Ling, J., Bian, Z., Yu, Q., Hou, B., Chen, Z., Wei, X., Qiu, L., Chen, W., He, W., Xu, X., Meng, L., Zhang, C., Chen, L., Deng, S., ... Yue, L. (2024). *Expert consensus on irrigation and intracanal medication in root canal therapy. International journal of oral science*, 16(1), 23. Recuperado de <https://doi.org/10.1038/s41368-024-00280-5>