



# Análisis LIBS de la limpieza realizada por un láser Nd:Yag sobre instrumentos de níquel titanio usados

Damara Citlali Vite Hernández,\* Jorge Humberto Luna Domínguez,§  
Carlos Alberto Luna Lara,§ Rogelio Oliver Parra§

\* Egresada del Posgrado en Endodoncia.

§ Profesor de tiempo completo.

Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.

## RESUMEN

**Introducción:** los instrumentos endodóncicos usados retienen *debris* dentinario, lo que representa un riesgo biológico que afecta su esterilización. **Objetivo:** evaluar con la técnica de espectroscopia de plasmas inducida por láser (LIBS) la limpieza de instrumentos endodóncicos de NiTi tratados con láser Nd:Yag. **Material y métodos:** se evaluaron instrumentos ProTaper Next X2 (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Switzerland) y WaveOne Gold Primary (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Switzerland) bajo microscopio estereoscópico (20X) en dos etapas: 1) instrumentos usados, 2) instrumentos limpiados con ultrasonido o con láser Nd:Yag. En ambas etapas se registró la presencia y extensión de *debris* dentinario teñido con solución Van Gieson. Posteriormente, se analizó con técnica LIBS los elementos contenidos en el *debris* dentinario en instrumentos NiTi usados y tratados con diferentes métodos de limpieza. **Resultados:** la técnica láser Nd:Yag presentó mayor capacidad de limpieza ( $p < 0.0001$ ). El análisis LIBS no mostró espectros de elementos contenidos en el *debris* biológico en los instrumentos tratados con ambos métodos. **Conclusiones:** el láser Nd:Yag es un método eficaz para la limpieza de instrumentos NiTi que elimina de su superficie los elementos contenidos en el *debris* dentinario.

**Palabras clave:** *debris* dentinario, láser Nd-YAG, infección cruzada, instrumentos rotatorios, LIBS.

## INTRODUCCIÓN

La limpieza del sistema de conductos radiculares constituye una de las etapas cruciales para la confor-

mación y obturación endodóncica.<sup>1</sup> Diferentes tipos de instrumentos rotatorios de níquel titanio (NiTi) se utilizan para cumplir este propósito operatorio.<sup>2-4</sup> Durante la instrumentación del sistema de conductos radiculares, una gran cantidad de *debris* dentinario se retiene y adhiere a la superficie activa de estos instrumentos;<sup>5,6</sup> éste contiene una elevada cantidad de microorganismos y residuos de tejido pulpar vital o necrótico.<sup>5</sup> El *debris* dentinario es un material biológico que puede ser transportado a otros pacientes si los instrumentos no son correctamente esterilizados.<sup>7-9</sup> A menudo los instrumentos de NiTi utilizados para la preparación biomecánica de los conductos radiculares son reutilizados en otros pacientes. Por lo anterior, la remoción del *debris* dentinario retenido en la parte activa de instrumentos NiTi representa un desafío significativo al momento de la limpieza, desinfección y esterilización de estos instrumentos. Al respecto, Popovic J y colaboradores<sup>5</sup> reportaron la presencia de 96% de *debris* biológico residual en instrumentos endodóncicos usados y sometidos a diferentes protocolos de limpieza.

Los métodos limpieza de instrumentos endodóncicos son variados e incluyen principalmente procedimientos como la prehumidificación en solución enzimática, limpieza de la parte activa de los instrumentos con esponja, instrumentos sometidos a la limpieza por medio de cubetas ultrasónicas<sup>10-12</sup> y reactores sonocímicos que intensifican el efecto de cavitación en cubetas ultrasónicas.<sup>9</sup> Sin embargo, estos métodos de limpieza de instrumentos no son capaces de eliminar las proteínas príon que, teóricamente, son capaces de transmitir enfermedades de tipo encefalopatías espongiiformes, ya que estas proteínas son resistentes a las altas temperaturas generadas durante los procedimientos de esterilización.<sup>13,14</sup> Recientemente, el láser Nd:Yag fue propuesto como un método para eliminar

Recibido: Junio 2020. Aceptado: Abril 2021.

**Citar como:** Vite HDC, Luna DJH, Luna LCA, Oliver PR. Análisis LIBS de la limpieza realizada por un láser Nd:Yag sobre instrumentos de níquel titanio usados. Rev Odont Mex. 2022; 26 (1): 8-18.

© 2022 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/>)

el *debris dentinario* causado por la instrumentación de conductos radiculares.<sup>15</sup> También se ha reportado que este láser Nd:Yag es capaz de remover cálculo dental.<sup>16</sup> Por su parte, el láser Er:Yag también se ha probado como una técnica útil para eliminar el *debris dentinario* de conductos radiculares instrumentados.<sup>17</sup>

Basado en estos estudios, es posible conseguir la limpieza de instrumentos de NiTi mediante la aplicación láser Nd:Yag para eliminar el *debris dentinario* adherido a la superficie activa de estos instrumentos. La presencia del *debris* biológico sobre los instrumentos endodónticos puede registrarse utilizando la espectroscopia de plasma inducido por láser (*Laser Induced Breakdown Spectroscopy* [LIBS, por sus siglas en inglés]). Ésta es una técnica capaz de determinar los elementos constituyentes de una muestra de una forma rápida, no invasiva y en tiempo real que presenta algunas aplicaciones en el área odontológica.<sup>18,19</sup> Por lo tanto, el objetivo del estudio fue evaluar con técnica LIBS la limpieza de la superficie de instrumentos endodónticos de NiTi tratados con láser Nd:Yag.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron instrumentos rotatorios nuevos ProTaper Next X2 (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Switzerland) y WaveOne Gold Primary (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Switzerland) para la preparación biomecánica *in vivo* de seis raíces mesiales de primeros molares inferiores con pulpitis irreversible. Los instrumentos se evaluaron bajo microscopio estereoscópico en dos etapas: etapa 1) usados en condiciones clínicas y 2) sometidos a limpieza con ultrasonido o con láser Nd:Yag. Los instrumentos sucios fueron sumergidos durante tres minutos en una solución Van Gieson (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) para teñir el colágeno contenido en el *debris* (color rojo y naranja). Teñidos los instrumentos, fueron asignados aleatoriamente a diferentes métodos de limpieza: Grupo A: Tres instrumentos ProTaper Next X2 que recibieron limpieza con ultrasonido. Grupo B: Seis instrumentos ProTaper Next X2 que recibieron limpieza con láser Nd:Yag. Grupo C: Tres instrumentos WaveOne Gold Primary que recibieron limpieza con ultrasonido. Grupo D: Seis instrumentos WaveOne Gold Primary que recibieron limpieza con láser Nd:Yag. Las cuatro caras de cada instrumento se observaron bajo microscopía estereoscópica (Leica EZ4D, Singapore) a 20X en secciones de 5 mm por cara.

En cada instrumento se obtuvo el registro de *debris dentinario* basal utilizando el método establecido por Linsuwanont y colaboradores<sup>20</sup> La categoría para clasificar el *debris dentinario* fue: SD (*debris* teñido)

partículas pigmentadas de rojo o naranja en la superficie del instrumento, F (película orgánica) una delgada capa no estructurada en parte de la superficie del instrumento y en general teñido de rojo, UD (*debris* no teñido) partículas finas que no presentan una tinción roja o naranja y C (superficie limpia). La evaluación de la extensión de *debris* teñido se registró como: 0 (ninguna), 1 (sólo película), 2 (ligero) partículas dispersadas ampliamente sobre la estría del instrumento, 3 (moderada) numerosas partículas con áreas de cobertura continua en la superficie, 4 (severo) áreas de los instrumentos donde las estrías están cubiertas por *debris* en su total profundidad. Dos especialistas en endodoncia previamente calibrados en la evaluación de los registros de *debris dentinario* realizaron las mediciones (Kappa = 0.86, buena fuerza de concordancia). Obtenidos los registros basales, los instrumentos recibieron inmediatamente los protocolos de limpieza señalados anteriormente.

**Limpieza con ultrasonido.** Los instrumentos sucios fueron insertados 10 veces de forma repetida en una esponja embebida en clorhexidina al 0.12%. Posteriormente, se colocaron en un contenedor con solución enzimática (Zymex-Sultan Healthcare) durante 30 min y se llevaron a una cubeta ultrasónica (Biosonic, Coltene UC50D) durante 15 min enjuagándolos finalmente bajo chorro de agua y dejándolos secar a temperatura ambiente.

**Limpieza con láser Nd:Yag.** Los instrumentos de NiTi se fijaron en los sujetadores de muestra en posición vertical realizando manualmente 40 disparos con láser Nd:YAG (Bralax Láser Labs, S de RL) 250 mJ, 3Hz, a una distancia de 6 cm a lo largo de la parte activa en cada cara del instrumento durante 2 min.

Finalizados los protocolos de limpieza, los instrumentos fueron sometidos nuevamente al registro microscópico de *debris dentinario* de la misma forma que la obtenida en la medición de los instrumentos sucios.

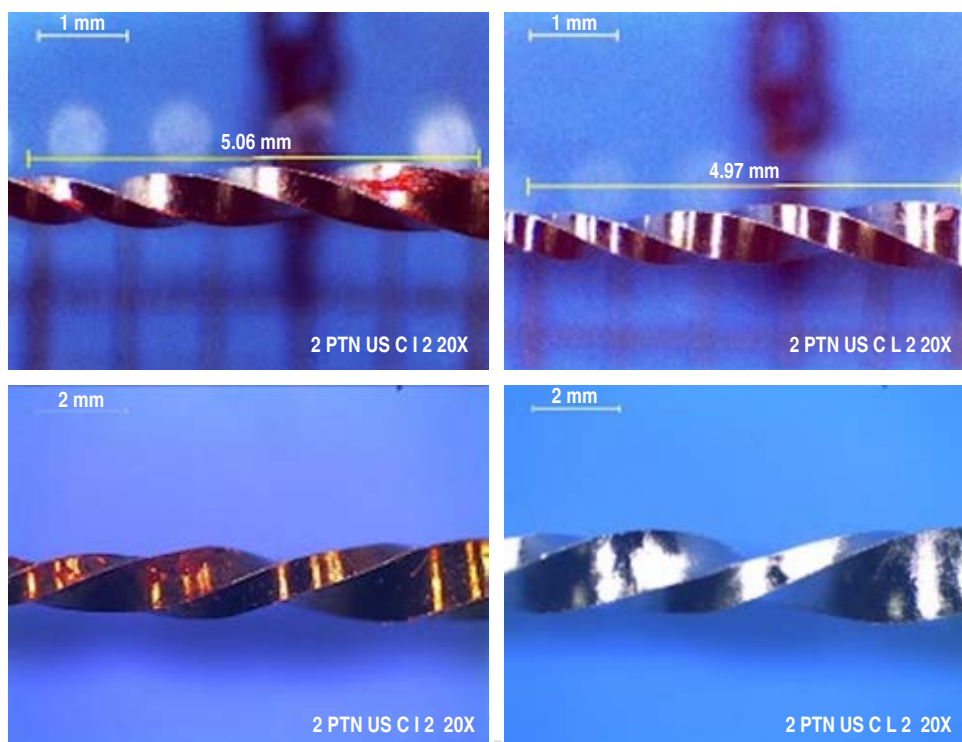
**Análisis LIBS.** Mediante técnica LIBS, en una muestra de *debris* se identificaron en diferente longitud de onda bajo las líneas espectrales obtenidas los elementos calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), flúor (F) y fósforo (P). La técnica LIBS identificó los elementos contenidos en la superficie de instrumentos nuevos (control), usados y tratados con ultrasonido o láser Nd:Yag. Como fuente de excitación se utilizó un láser de Nd:YAG equipado con un Q:Switch pasivo de Cr:YAG. El láser emite en la longitud de onda de 1,064 nm disparos láser, cada uno de los cuales contiene trenes de hasta cuatro pulsos con energía máxima de 80 mJ. La luz láser se enfocó sobre la muestra con una lente a una distancia de 10 cm, el láser provocó la formación de un plasma introducido en una fibra ópti-

**Tabla 1:** Frecuencias y porcentajes de cantidad de *debris* en instrumentos de NiTi usados y tratados con ultrasonido o láser Nd:Yag. *Frequencies and percentages of debris found in used NiTi instruments and in instruments treated with ultrasound or Nd:Yag laser.*

Instrumentos	Debris dentinario	Técnica		Total n (%)
		Ultrasonido n (%)	Láser Nd:Yag n (%)	
Protaper Next X2	Debris teñido	32 <sub>a</sub> (88.9)	72 <sub>b</sub> (100)	104 (96.3)
	Película orgánica	3 <sub>a</sub> (8.3)	0 <sub>b</sub> (0.0)	3 (2.8)
	Debris no teñido	1 <sub>a</sub> (2.8)	0 <sub>a</sub> (0.0)	1 (0.9)
	Total	36 (100)	72 (100.0)	108 (100.0)
WaveOne Gold Primary	Debris teñido	28 <sub>a</sub> (77.8)	70 <sub>b</sub> (97.2)	98 (90.7)
	Película orgánica	4 <sub>a</sub> (11.1)	0 <sub>b</sub> (0.0)	4 (3.7)
	Debris no teñido	4 <sub>a</sub> (11.1)	2 <sub>a</sub> (2.8)	6 (5.6)
	Total	36 (100.0)	72 (100.0)	108 (100.0)

Cada letra subíndice denota un subconjunto de técnica cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel 0.05. Letras diferentes denotan significancia estadística ( $p < 0.05$ ).

Each subscript letter denotes a technique subset whose column proportions do not differ significantly from each other at the 0.05 level. Different letters denote statistical significance ( $p < 0.05$ ).



**Figura 1:**

Imágenes de instrumentos usados (izquierda) Protaper Next X2 (arriba), WaveOne Gold Primary (abajo) y tratados con ultrasonido (arriba derecha) o láser. Nd = Yag (abajo derecha) 20X.

*Images of used instruments (left): Protaper Next X2 (top), WaveOne Gold Primary (bottom) and of instruments treated with Ultrasound (top right) or Nd:Yag laser (bottom right) 20X.*

ca de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro, conduciendo la radiación a un espectrómetro OceanOptics (modelo HR2000), con rango espectral de 200 a 1,100 nm, resolución espectral de 1.5 nm y tiempo de integración de 3.8 ms. Para la detección y captura de espectros se utilizó el software Spectra Suite. Los elementos de interés fueron identificados visualmente a través de la obtención de un espectro normalizado. Se utilizó la aplicación

Merge Graph para analizar individualmente regiones específicas de la caracterización espectral tanto de *debris* biológico como de instrumentos NiTi. Para el análisis de los elementos identificados se tomó como referencia la base de datos publicada por el *National Institute of Standards and Technology* (NIST).<sup>21</sup>

Se utilizó la prueba U Mann Whitney Wilcoxon en la comparación del *debris* teñido y extensión de

*debris* entre ambos métodos de limpieza. Se manejó un valor alfa de 0.05 en el programa IBM SPSS Statistics® 23.0.

**RESULTADOS**

Los instrumentos usados bajo condiciones clínicas presentaron *debris* dentinario teñido en más de 90% de su parte activa (Tabla 1). En ambas marcas de instrumentos se observó mayor cantidad de *debris* teñido en el grupo láser Nd:Yag. ( $p < 0.05$ ) (Figura 1).

Los resultados de la limpieza conseguida por los métodos se muestran en la Tabla 2 y la extensión de *debris* en la Tabla 3. Bajo observación microscópica, la técnica láser Nd:Yag eliminó totalmente el *debris* dentinario de la superficie en ambas marcas de instrumentos ( $p < 0.0001$ ). La limpieza con ultrasonido dejó mayor porcentaje de película orgánica en ambos tipos de instrumentos ( $p < 0.05$ ). La extensión de *debris* en los instrumentos usados WaveOne Gold Primary asignados a ambas técnicas de limpieza no mostró diferencias significativas ( $p = 0.58$ ) (Tabla 4). Los ins-

**Tabla 2:** Frecuencia y porcentaje de *debris* dentinario posterior a la limpieza con láser Nd:Yag o ultrasonido de instrumentos de NiTi. *Frequency and percentage of dentin debris following Nd:Yag laser or ultrasonic cleaning of NiTi instruments.*

Instrumento	Debris dentinario	Técnica		Total n (%)
		Ultrasonido n (%)	Láser Nd:Yag n (%)	
Protaper Next X2	Película orgánica	6 <sub>a</sub> (16.7)	0 <sub>b</sub> (0)	6 (5.6)
	Debris no teñido	3 <sub>a</sub> (8.3)	0 <sub>b</sub> (0)	3 (2.8)
	Superficie limpia	27 <sub>a</sub> (75.0)	72 <sub>b</sub> (100.0)	99 (91.7)
	Total	36 (100.0)	72 (100.0)	108 (100)
WaveOne Gold Primary	Debris teñido	9 <sub>a</sub> (25.0)	0 <sub>b</sub> (0.0)	9 (8.3)
	Superficie limpia	27 <sub>a</sub> (75.0)	72 <sub>b</sub> (100.0)	99 (91.7)
	Total	36 (100.0)	72 (100.0)	108 (100)

Cada letra subíndice denota un subconjunto de técnica cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel 0.05. Las letras diferentes denotan significancia estadística ( $p < 0.05$ ).  
 Each subscript letter denotes a technique subset whose column proportions do not differ significantly from each other at the 0.05 level. Different letters denote statistical significance ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 3:** Frecuencias y porcentajes de extensión de *debris* en instrumentos de NiTi usados asignados a dos diferentes métodos de limpieza. *Frequencies and percentages of debris extension in used NiTi instruments assigned to two different cleaning methods.*

Instrumento	Extensión de <i>debris</i>	Técnica		Total n (%)
		Ultrasonido n (%)	Láser Nd:Yag n (%)	
Protaper Next X2	Ninguna	3 <sub>a</sub> (8.3)	0 <sub>b</sub> (0)	3 (2.80)
	Una película	10 <sub>a</sub> (27.8)	0 <sub>b</sub> (0)	10 (9.3)
	Leve	16 <sub>a</sub> (44.4)	38 <sub>a</sub> (52.8)	54 (50.0)
	Moderada	7 <sub>a</sub> (19.4)	30 <sub>b</sub> (41.7)	37 (34.3)
	Severo	0 <sub>a</sub> (0.0)	4 <sub>a</sub> (5.6)	4 (3.7)
	Total	36 (100.0)	72 (100.0)	108 (100.0)
WaveOne Gold Primary	Una película	5 <sub>a</sub> (13.9)	0 <sub>b</sub> (0)	5 (4.6)
	Leve	19 <sub>a</sub> (52.8)	59 <sub>b</sub> (81.9)	78 (72.2)
	Moderada	9 <sub>a</sub> (25.0)	13 <sub>a</sub> (18.1)	22 (20.4)
	Severo	3 <sub>a</sub> (8.3)	0 <sub>b</sub> (0)	3 (2.8)
	Total	36 (100.0)	72 (100.0)	108 (100.0)

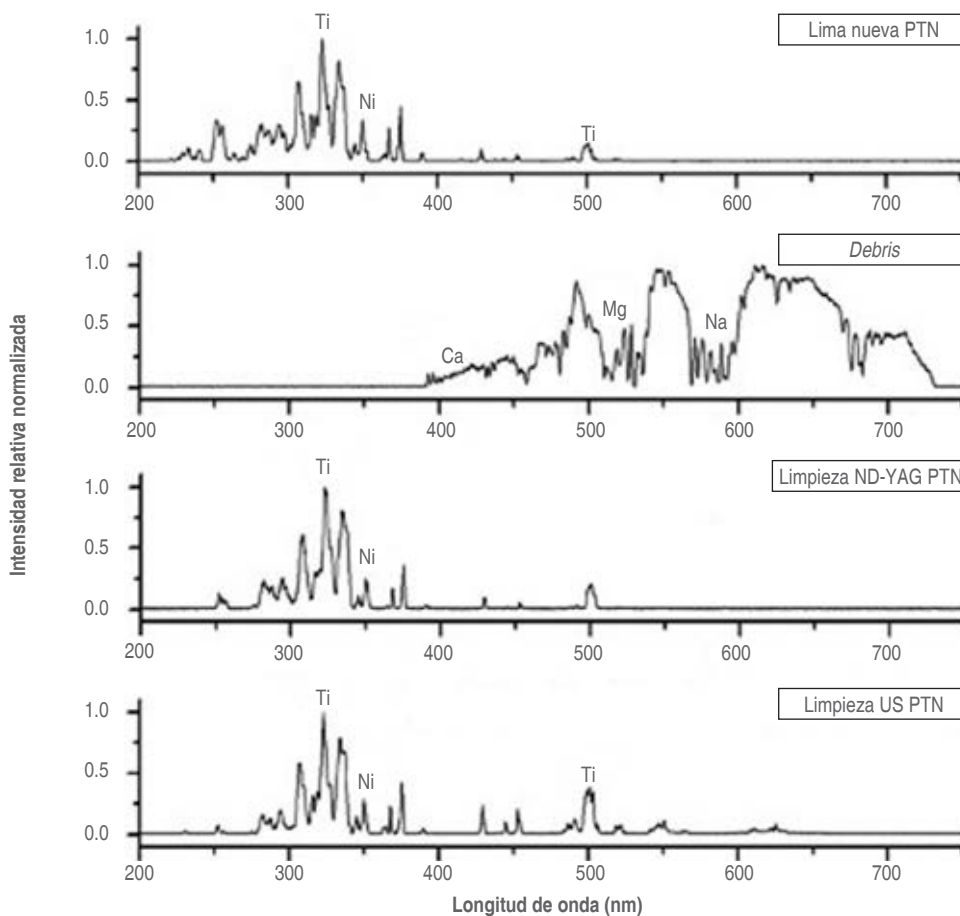
Cada letra subíndice denota un subconjunto de técnica cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel 0.05. Las letras diferentes denotan significancia estadística ( $p < 0.05$ ).  
 Each subscript letter denotes a technique subset whose column proportions do not differ significantly from each other at the 0.05 level. Different letters denote statistical significance ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 4:** Frecuencias y porcentajes de extensión de *debris* en instrumentos de NiTi tratados para su limpieza con ultrasonido o láser Nd:Yag. *Frequencies and percentages of debris extension in NiTi instruments cleansed with ultrasound or Nd: Yag laser.*

Instrumento	Extensión de <i>debris</i>	Técnica		Total n (%)
		Ultrasonido n (%)	Láser Nd:Yag n (%)	
Protaper Next X2	Ninguna	27 <sub>a</sub> (75.0)	72 <sub>b</sub> (100%)	99 (91.7%)
	Una película	9 <sub>a</sub> (25.0)	0 <sub>b</sub> (0%)	9 (8.3%)
	Total	36 (100)	72 (100%)	108 (100%)
WaveOne Gold Primary	Ninguna	28 <sub>a</sub> (77.8)	72 <sub>b</sub> (100%)	100 (92.6%)
	Una película	8 <sub>a</sub> (22.2)	0 <sub>b</sub> (0%)	8 (7.4%)
	Total	36 (100)	72 (100%)	108 (100%)

Cada letra subíndice denota un subconjunto de técnica cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel 0.05. Las letras diferentes denotan significancia estadística ( $p < 0.05$ ).

Each letter denotes a technique subset whose column proportions do not differ significantly from each other at the 0.05 level. Different letters denote statistical significance ( $p < 0.05$ ).



**Figura 2:**

Longitud de onda de elementos contenidos en el *debris* dentinario y en la superficie de instrumentos ProTaper Next X2 nuevos y tratados con ultrasonido o láser Nd:Yag. PTN = ProTaper Next X2. US = ultrasonido.

*Wavelength of elements contained in the dentin debris and on the surface of new and ultrasound or Nd: Yag laser treated ProTaper Next X2 instruments.* PTN = ProTaper Next X2. US = ultrasound.

trumentos Protaper Next X2 tratados con ultrasonido presentaron menor extensión de *debris* ( $p < 0.001$ ), mientras que los tratados con láser no mostraron presencia de película orgánica. La técnica de limpieza lá-

ser Nd:Yag evidenció mayor capacidad de limpieza de los instrumentos NiTi ( $p < 0.0001$ ).

Se observaron espectros similares en instrumentos de NiTi nuevos y tratados con ultrasonido y láser

Nd-YAG. En ninguno de los espectros analizados se encontraron elementos Ca, Mg y Na característicos de la presencia de *debris* dentinario en la superficie de instrumentos ProTaper Next X2 y WaveOne Gold Primary nuevos y limpiados con ultrasonido o láser Nd:Yag (Figuras 2 y 3).

### DISCUSIÓN

En la práctica endodóncica los instrumentos endodóncicos son generalmente reutilizados, siendo de suma importancia su limpieza completa previo a la esterilización. Smith y colaboradores<sup>22</sup> reportaron que los métodos de desinfección de instrumentos endodóncicos contaminados bajo condiciones clínicas no consiguen remover totalmente el material biológico adherido a estos instrumentos. Nuestros resultados indican que los instrumentos de NiTi usados retienen *debris* dentinario con posible riesgo biológico de acuerdo a la tinción mostrada por la solución Van Gieson.<sup>20</sup> Los instrumentos endodóncicos que contienen *debris* biológico contaminado pueden actuar como vehículo para la transmisión de diversas enfermeda-

des como la adquirida a través de la proteína prión Creutzfeldt-Jakob, un tipo de encefalopatía espongi-forme que no tiene tratamiento y que puede llegar a ser mortal.<sup>23,24</sup>

El presente estudio reveló que la radiación láser con Nd:Yag es capaz de eliminar el *debris* biológico de las superficies de instrumentos rotatorios de Ni-Ti usados bajo condiciones clínicas. Encontramos que el láser Nd:Yag eliminó en su totalidad el *debris* adherido a la superficie de los instrumentos endodóncicos con una eficacia semejante a la reportada del láser Nd:Yag en la remoción de cálculo dental.<sup>16</sup> La forma en que se consigue la eliminación del *debris* de la superficie de instrumentos endodóncicos se da de manera semejante a la observada en la eliminación de cálculo dental. Al incidir el láser una superficie, se establece un proceso de degradación térmica en esta superficie, donde la densidad de energía aplicada a la muestra, en este caso la superficie de un instrumento de NiTi, eleva la temperatura de esta superficie causando una microexplosión y vaporización que desprende el material adherido al instrumento. El láser tiene efectos particulares en una muestra irradiada y

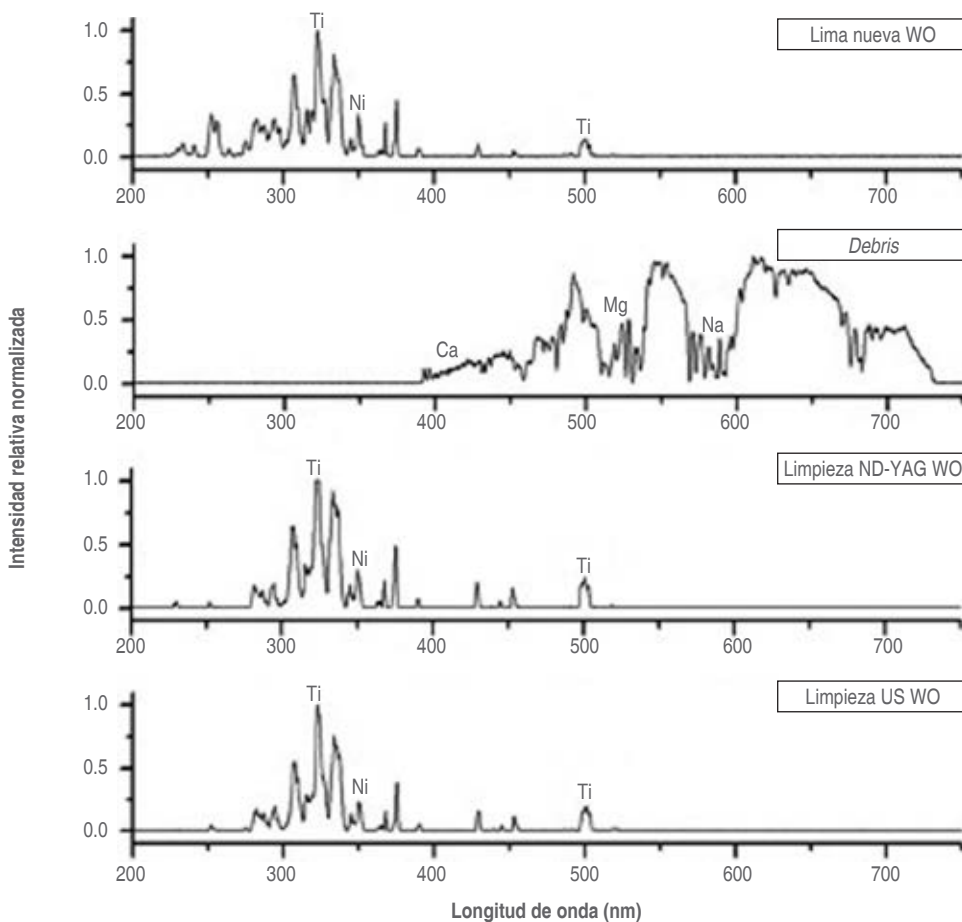


Figura 3:

Longitud de onda de elementos identificados en el *debris* dentinario y en la superficie de instrumentos WaveOne Gold Primary nuevos y sometidos a limpieza con ultrasonido o láser. Nd = Yag. WO = WaveOne Gold. US = ultrasonido.

Wavelength of elements identified in the dentin debris and on the surface of new WaveOne Gold Primary instruments cleaned with ultrasound or Nd:Yag laser. WO = WaveOne Gold. US = ultrasound.

depende en gran medida de la absorción de la muestra a la longitud de onda irradiada. Si la absorción de luz láser por el tejido orgánico es muy fuerte, la energía se deposita cerca de la superficie y la vaporización se confina a una capa superficial del instrumento.

Encontramos que el uso de la técnica LIBS como método de comprobación de la limpieza de *debris* dentinario es una técnica que permite analizar la composición elemental mediante la ablación láser de capas de material.<sup>19,25</sup> Se observó que los instrumentos *WaveOne Gold Primary* perdieron el color dorado característico de este sistema, se cree que esto puede deberse a cambios térmicos sufridos por la aleación debido al calor generado en la superficie y al proceso de la ablación. En la evaluación microscópica observamos que el ultrasonido no consiguió una limpieza completa de los instrumentos. Popovic y colaboradores<sup>5</sup> reportaron que la limpieza manual, el uso de un detergente y las ondas por ultrasonido son factores que favorecen la limpieza de instrumentos endodóncicos, si bien estos autores no describieron una limpieza completa de los instrumentos tratados con ultrasonido, nuestros resultados son coincidentes en que el uso del ultrasonido no remueve totalmente el material orgánico bajo inspección microscópica. Sin embargo, en nuestro estudio, la técnica LIBS no fue capaz de detectar elementos contenidos en el *debris* de instrumentos tratados con ultrasonido. Esta situación se puede explicar, ya que la obtención de muestras para análisis por técnica LIBS es microscópica, produce un plasma a partir de generar un cráter (50  $\mu\text{m}$  aproximadamente) sobre la superficie examinada que puede no ser representativo de la condición que se presenta en toda la muestra. Linsuwanont y colaboradores<sup>20</sup> concluyeron que la total remoción de *debris* orgánico de instrumentos endodóncicos es posible usando la combinación de procedimientos físicos y químicos, pero es necesario un cuidado meticuloso en su eliminación. Nuestros resultados confirman la necesidad de aplicar con detalle el proceso de limpieza de los instrumentos endodóncicos a fin de propiciar las condiciones correctas para que el proceso de esterilización sea efectivo.

## CONCLUSIONES

Los instrumentos endodóncicos de NiTi usados en condiciones clínicas retienen una cantidad significativa de *debris* biológico que pueden representar un riesgo biológico y afectar una efectiva esterilización. El láser Nd:Yag (250 mJ, 3Hz, a 6 cm de la muestra) es una técnica que elimina el *debris* biológico y los elementos contenidos en el *debris* de la superficie de

instrumentos endodóncicos usados, siendo una posible alternativa al uso de la limpieza con ultrasonido. La técnica LIBS es un método útil para detectar elementos constituyentes del *debris* dentinario y de instrumentos de NiTi.

## Original research

### LIBS analysis of the cleaning performed by a Nd:Yag laser on used Nickel Titanium instruments

Damara Citlali Vite Hernández,\*  
Jorge Humberto Luna Domínguez,<sup>§</sup>  
Carlos Alberto Luna Lara,<sup>§</sup> Rogelio Oliver Parra<sup>§</sup>

\* Egresada del Posgrado en Endodoncia.

<sup>§</sup> Profesor de tiempo completo.

Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.

#### ABSTRACT

**Introduction:** used endodontic instruments retain dentin *debris* which represents a biological risk that affects their sterilization. **Objective:** to assess the cleaning of NiTi endodontic instruments treated with an Nd:Yag laser using the laser-induced plasma spectroscopy (LIBS) technique. **Materials and methods:** ProTaper Next X2 instruments (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Switzerland) and *WaveOne Gold Primary* (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Switzerland) were evaluated under a stereoscopic microscope (20X) in 2 stages: 1) used instruments, 2) instruments cleaned with ultrasonics or Nd:Yag laser. In both stages, the presence and extent of dentin *debris* stained with Van Gieson solution were recorded. Subsequently, the elements contained in the dentin *debris* found in used NiTi instruments and treated with different cleaning methods were analyzed with the LIBS technique. **Results:** the Nd:Yag laser technique presented more cleaning capacity ( $p < 0.0001$ ). The LIBS analysis did not show spectra of elements contained in the biological *debris* in the instruments treated with both methods. **Conclusions:** the Nd:Yag laser is an effective method for cleaning NiTi instruments by removing the elements contained in the dentin *debris* from its surface.

**Keywords:** dentin *debris*, Nd-YAG laser, cross infection, rotary instruments, LIBS.

#### INTRODUCTION

Cleaning the root canal system is one of the crucial steps for endodontic shaping and obturation.<sup>1</sup> Different types of nickel-titanium (NiTi) rotary instruments are used to fulfill this operative purpose.<sup>2-4</sup> During instrumentation of the root canal system, a large amount of dentin *debris* is retained and adheres to the active surface of these instruments;<sup>5,6</sup> it contains a high amount of microorganisms and residues of vital or necrotic pulp tissue.<sup>5</sup> Dentin *debris* is a biological material that can be

transported to other patients if the instruments are not properly sterilized.<sup>7-9</sup> Often, NiTi instruments used for the biomechanical preparation of root canals are reused in other patients. Therefore, the removal of dentin *debris* retained in the active part of NiTi instruments represents a significant challenge during the cleaning, disinfection, and sterilization of these instruments. In this regard, Popovic J et al.<sup>5</sup> reported the presence of 96% of residual biological *debris* in used endodontic instruments subjected to different cleaning protocols.

Endodontic instrument cleaning methods are varied and include mainly procedures such as pre-wetting in enzymatic solution, cleaning of the active part of the instruments with a sponge, instruments subjected to cleaning employing ultrasonic tanks,<sup>10-12</sup> and sonochemical reactors that intensify the cavitation effect in ultrasonic tanks.<sup>9</sup> However, these instrument cleaning methods are not able to eliminate prion proteins that are theoretically capable of transmitting spongiform encephalopathy-type diseases because these proteins are resistant to the high temperatures generated during sterilization procedures.<sup>13,14</sup> Recently, the Nd:Yag laser was introduced as a method to remove dentin *debris* caused by root canal instrumentation.<sup>15</sup> It has also been reported that the Nd:Yag laser is capable of removing dental calculus.<sup>16</sup> The Er:Yag laser has also proven to be a useful technique for the removal of dentin *debris* from instrumented root canals.<sup>17</sup>

Based on these studies, it is assumed that it is possible to achieve thorough cleaning of NiTi instruments by applying Nd:Yag laser to remove the dentin *debris* adhered to the active surface of these instruments. The presence of biological *debris* on endodontic instruments can be recorded using Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). This technique can determine the constituent elements of a sample in a fast, non-invasive, and real-time manner that may be useful in the dental field.<sup>18,19</sup> Therefore, the objective of the study was to evaluate through the LIBS technique the surface cleanliness of NiTi endodontic instruments treated with Nd:Yag laser.

## MATERIALS AND METHODS

New rotary instruments ProTaper Next X2 (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Switzerland) and WaveOne Gold Primary (Dentsply Maillefer®, Ballaigues, Switzerland) were used for the *in vivo* biomechanical preparation of 6 mesial roots of lower first molars with irreversible pulpitis. The instruments were assessed under stereo microscopy in 2 stages: stage 1) used in clinical conditions and 2) subjected

to ultrasonic or Nd:Yag laser cleaning. The dirty instruments were immersed for 3 minutes in a Van Gieson solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) to stain the collagen contained in the *debris* (red and orange color). Once the instruments were stained, they were randomly assigned to different cleaning methods: Group A: Three ProTaper Next X2 instruments that received ultrasound cleaning. Group B: Six ProTaper Next X2 instruments that received Nd:Yag laser cleaning. Group C: Three WaveOne Gold Primary instruments that received ultrasound cleaning. Group D: Six WaveOne Gold Primary instruments that received Nd:Yag laser cleaning. The four facets of each instrument were observed under stereo microscopy (Leica EZ4D, Singapore) at 20X in sections of 5 mm per face.

On each instrument, the basal dentin *debris* record was obtained using the method established by Linsuwanont et al.<sup>20</sup> The category for classifying dentin *debris* was: SD (stained *debris*) red or orange pigmented particles on the instrument surface, F (organic film) a thin unstructured layer on some part of the instrument surface and generally stained red, UD (unstained *debris*) fine particles not showing red or orange staining and C (clean surface). The evaluation of the extent of Stained *Debris* was recorded as 0 (none), 1 (film only), 2 (light) particles scattered widely over the instrument groove, 3 (moderate) numerous particles with areas of continuous coverage on the surface, 4 (severe) areas of the instruments in which the grooves are covered by *debris* to their full depth. Two endodontic specialists previously calibrated in the evaluation of dentin *debris* measurement performed the records (Kappa=0.86, good concordance strength). Once the basal records were obtained, the instruments immediately received the cleaning protocols indicated above.

**Ultrasound cleaning.** The dirty instruments were inserted 10 times in a sponge soaked in 0.12% chlorhexidine. Subsequently, they were placed in a container containing enzymatic solution (Zymex-Sultan Healthcare) for 30 minutes and afterward, in an ultrasonic tank (Biosonic, Coltene UC50D) for 15 min. Finally, they were rinsed under running water and left to dry at room temperature.

**Nd:Yag laser cleaning.** The NiTi instruments were fixed in the sample holders in a vertical position. Forty shots were manually performed with Nd:Yag laser (Bralax Laser Labs, S de RL) 250 mJ, 3Hz, at a distance of 6 cm along the active part of each face of the instrument for 2 min.

Once the cleaning protocols were completed, the instruments were again subjected to a microscopic



recording of dentin *debris* in the same way as that performed for the measurement of the dirty instruments.

**LIBS analysis.** Using the LIBS technique, the elements calcium (Ca), magnesium (Mg), sodium (Na), fluorine (F), and phosphorus (P) were identified in a *debris* sample at different wavelengths under the obtained spectral lines. The LIBS technique identified the elements contained on the surface of new instruments (control), used and treated with ultrasound or Nd: Yag laser. An Nd: YAG laser equipped with a passive Cr: YAG Q: Switch was used as the excitation source. The laser emits in the wavelength of 1064 nm laser shots, each containing trains of up to 4 pulses with maximum energy of 80 mJ. The laser light was focused on the sample with a lens at a distance of 10 cm. The laser caused the formation of a plasma introduced in an optical fiber of 200  $\mu\text{m}$  diameter thus conducting the radiation to an OceanOptics spectrometer (model HR2000), with a spectral range from 200 to 1100 nm, a spectral resolution of 1.5 nm and integration time of 3.8 ms. Spectra Suite software was used for the detection and capture of spectra. The elements of interest were visually identified by obtaining a normalized spectrum. The Merge Graph application was used to individually analyze specific regions of the spectral characterization of both biological *debris* and NiTi instruments. For the analysis of the identified elements, the database published by the National Institute of Standards and Technology (NIST)<sup>21</sup> was used as a reference.

The Mann Whitney Wilcoxon U test was used to compare the stained *debris* and *debris* extension between both cleaning methods. An alpha value of 0.05 was used in the IBM SPSS Statistics® 23.0 program.

## RESULTS

The instruments used under clinical conditions presented stained dentin *debris* on more than 90% of their active surface (Table 1). In both brands of instruments, a greater amount of stained *debris* was observed in the Nd:Yag laser group ( $p < 0.05$ ) (Figure 1). The results of the cleaning achieved by each method are shown in Table 2 and the extent of *debris* in Table 3. Under microscopic observation, the Nd:Yag laser technique completely removed the dentin *debris* from the surface in both instrument brands ( $p < 0.0001$ ). Ultrasonic cleaning left a higher percentage of organic film on both types of instruments ( $p < 0.05$ ). The extension of *debris* in the used WaveOne Gold Primary instruments assigned to both cleaning

techniques did not show significant differences ( $p = 0.58$ ) (Table 4). The Protaper Next X2 instruments treated with ultrasound presented less extension of *debris* ( $p < 0.001$ ) while those treated with laser did not present any *debris* film. Ultrasonic cleaning identified instruments with organic film. The Nd: Yag laser cleaning technique presented a greater cleaning capacity of the NiTi instruments ( $p < 0.0001$ ).

Similar spectra were observed in new NiTi instruments treated with ultrasound and Nd-YAG laser. In none of the analyzed spectra Ca, Mg and Na elements characteristic of the presence of dentin *debris* were found on the surface of new ProTaper Next X2 and WaveOne Gold Primary instruments cleaned with ultrasound or Nd: Yag laser (Figures 2 and 3).

## DISCUSSION

In endodontic practice, endodontic instruments are generally reused, being of utmost importance that they are completely clean before sterilization. Smith et al.<sup>22</sup> reported that disinfection methods for treating contaminated endodontic instruments under clinical conditions fail to completely remove the biological material adhered to these instruments. Our results indicate that used NiTi instruments retain dentin *debris* with potential biological risk according to the staining shown by the Van Gieson solution.<sup>20</sup> Endodontic instruments containing contaminated biological *debris* can act as a vehicle for the transmission of various diseases such as that acquired through the Creutzfeldt-Jakob prion protein, a type of spongiform encephalopathy that has no treatment and can be fatal.<sup>23,24</sup>

The present study found that Nd:Yag laser irradiation is capable of removing biological *debris* from the surfaces of rotary NiTi instruments used under clinical conditions. We found that the Nd:Yag laser completely removed the *debris* adhering to the surface of endodontic instruments like the reported efficacy of the Nd: Yag laser in the removal of dental calculus.<sup>16</sup> The way in which the removal of *debris* from the surface of endodontic instruments is achieved is similar to that observed in the removal of dental calculus. When the laser hits a surface, a thermal degradation process is established on this surface, where the energy density applied to the sample, in this case, the surface of a NiTi instrument, raises the temperature of this surface causing a micro explosion and vaporization that detaches the material adhered to the instrument. The laser has particular effects on an irradiated sample and depends strongly on the

absorption of the sample at the irradiated wavelength. If the absorption of laser light by the organic tissue is very strong, the energy is deposited near the surface, and vaporization is confined to a surface layer of the instrument.

We also found that the use of the LIBS technique as a method for testing dentin *debris* clearance is a technique that allows the elemental composition to be analyzed by laser ablation of material layers.<sup>19,25</sup> It was observed that the WaveOne Gold Primary instruments lost their characteristic golden color. This may be due to thermal changes suffered by the alloy derived from the heat generated on the surface and the ablation process. In the microscopic evaluation, it was observed that the ultrasound did not achieve a complete cleaning of the instruments. Popovic et al.<sup>5</sup> reported that manual cleaning, the use of a detergent, and ultrasound waves are factors that favor the cleaning of endodontic instruments. Although these authors did not report a complete cleaning of the instruments treated with ultrasound, our results coincide in that the use of ultrasound does not completely remove the organic material under microscopic inspection. However, in our study, the LIBS technique was not able to find elements contained in the *debris* of ultrasound-treated instruments. This situation can be explained since obtaining samples for analysis by LIBS technique is microscopic, generating plasma from a crater (50  $\mu\text{m}$  approximately) on the examined surface that may not be representative of the condition present in the entire sample. Linsuwanont et al.<sup>20</sup> concluded that the total removal of organic *debris* from endodontic instruments is possible using a combination of physical and chemical procedures, but meticulous care in its removal is necessary. Our results confirm the need for a detailed application of the endodontic instrument cleaning process in order to provide the correct conditions for guaranteeing effectiveness during the sterilization process.

## CONCLUSIONS

NiTi endodontic instruments used in clinical conditions retain a significant amount of biological *debris* that may represent a biohazard and affect effective sterilization. The Nd: Yag laser (250 mJ, 3Hz, at 6 cm from the sample) is a technique that removes the biological *debris* and the elements contained in the *debris* from the surface of used endodontic instruments, making it a viable alternative to the use of ultrasound cleaning. The LIBS technique is a useful method for detecting constituent elements of dentin *debris* and NiTi instruments.

## REFERENCIAS / REFERENCES

1. Ng Y-L, Mann V, Gulabivala K. A prospective study of the factors affecting outcomes of nonsurgical root canal treatment: part 1: periapical health. *Int Endod J.* 2011; 44 (7): 583-609. doi: 10.1111/j.1365-2591.2011.01872.x.
2. Haapasalo M, Shen Y. Evolution of nickel-titanium instruments: from past to future. *Endod Top.* 2013; 29 (1): 3-17. doi: 10.1111/etp.12049.
3. Celikten B, Uzuntas CF, Kursun S, Orhan AI, Tufenkci P, Orhan K et al. Comparative evaluation of shaping ability of two nickel-titanium rotary systems using *cone beam* computed tomography. *BMC Oral Health.* 2015; 15 (1): 32. doi: 10.1186/s12903-015-0019-5.
4. Pasqualini D, Alovisi M, Cemenasco A, Mancini L, Paolino DS, Bianchi CC et al. Micro-computed tomography evaluation of protaper next and biorace shaping outcomes in maxillary first molar curved canals. *J Endod.* 2015; 41 (10): 1706-1710. doi: 10.1016/j.joen.2015.07.002.
5. Popovic J, Gasic J, Zivkovic S, Petrovic A, Radicevic G. Evaluation of biological *debris* on endodontic instruments after cleaning and sterilization procedures. *Int Endod J.* 2010; 43 (4): 336-341. doi: 10.1111/j.1365-2591.2010.01686.x.
6. Parirokh M, Asgary S, Eghbal MJ. An energy-dispersive X-ray analysis and SEM study of *debris* remaining on endodontic instruments after ultrasonic cleaning and autoclave sterilization. *Aust Endod J.* 2005; 31 (2): 53-58. doi: 10.1111/j.1747-4477.2005.tb00222.x.
7. Porter SR. Prion disease: possible implications for oral health care. *J Am Dent Assoc.* 2003; 134 (11): 1486-1491. doi: 10.14219/jada.archive.2003.0079.
8. Sonntag D, Peters OA. Effect of prion decontamination protocols on nickel-titanium rotary systems. *J Endod.* 2007; 33 (4): 442-446. doi: 10.1016/j.joen.2006.12.012.
9. Bryson LM, Fernandez Rivas D, Boutsoukis C. Cleaning of used rotary nickel-titanium files in an ultrasonic bath by locally intensified acoustic cavitation. *Int Endod J.* 2018; 51 (4): 457-468. doi: 10.1111/iej.12866.
10. Whitworth CL, Davies K, Palmer NOA. Society for Healthcare Epidemiology of America, Smith AJ et al. Can protein contamination be removed from hand endodontic instruments? *Prim Dent Care.* 2009;16(1):7-12. doi: 10.1308/135576109786994569.
11. Perakaki K, Mellor AC, Qualtrough AJE. Comparison of an ultrasonic cleaner and a washer disinfectant in the cleaning of endodontic files. *J Hosp Infect.* 2007; 67 (4): 355-359. doi: 10.1016/j.jhin.2007.09.009.
12. Van Eldik DA, Zilm P, Rogers AH, Marin PD. A SEM evaluation of *debris* removal from endodontic files after cleaning and steam sterilization procedures. *Aust Dent J.* 2004; 49 (3): 128-135. doi: 10.1111/j.1834-7819.2004.tb00061.x.
13. Sushma B, Gugwad S, Pavaskar R, Malik SA. Prions in dentistry: A need to be concerned and known. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2016; 20 (1): 111-114. doi: 10.4103/0973-029X.180961.
14. Bali Z, Bali RK, Nagrath S. Prion diseases: risks, characteristics, and infection control considerations in dentistry. *J Invest Clin Dent.* 2011; 2 (4): 236-240. doi: 10.1111/j.2041-1626.2011.00080.x.
15. Montero-Miralles P, Estévez-Luaña R, DeGregorio-González C, Valencia-dePablo O, Jaramillo DE, Cisneros-Cabello R. Effectiveness of Nd:YAG Laser on the elimination of *debris* and Smear Layer. A comparative study with two different irrigation solution: EDTA and QMix® in addition to NaOCl. *J Clin Exp Dent.* 2018; 10 (1): 70-74. doi: 10.4317/jced.54395.
16. Gómez C, Costela Á, García-Moreno I, García JA. *In Vitro* Evaluation of Nd:YAG laser radiation at three different

- wavelengths (1064, 532, and 355 nm) on calculus removal in comparison with ultrasonic scaling. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24 (3): 366-376. doi: 10.1089/pho.2006.24.366.
17. Aldeen RZ, Aljabban O, Milly H, Allouch A, Hamadah O. Effect of Er:YAG laser-activated irrigation on dentine debris removal from different parts of the root canal system: An *in vitro* study. *Dent Med Probl.* 2018; 55 (2): 133-138. doi: 10.17219/dmp/85709.
  18. Samek O, Liška M, Kaise J, Beddow DCS, Telle HH, Kukhlevsky SV. Clinical application of laser-induced breakdown spectroscopy to the analysis of teeth and dental materials. *J Clin Laser Med Surg.* 2000; 18 (6): 281-289. doi: 10.1089/clm.2000.18.281.
  19. Rohde M, Mehari F, Klampfl F, Adler W, Neukam F-W, Schmidt M et al. The differentiation of oral soft-and hard tissues using laser induced breakdown spectroscopy – a prospect for tissue specific laser surgery. *J Biophotonics.* 2017; 10 (10): 1250-1261. DOI: 10.1002/jbio.201600153
  20. Linsuwanont P, Parashos P, Messer HH. Cleaning of rotary nickel-titanium endodontic instruments. *Int Endod J.* 2004; 37 (1): 19-28. doi: 10.1111/j.1365-2591.2004.00747.x.
  21. National Institute of Standards and Technology. U.S. Department of Commerce. [Internet]. [Consultado]. Available in: <https://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/LIBS/lib-form.html>
  22. Smith A, Dickson M, Aitken J, Bagg J. Contaminated dental instruments. *J Hosp Infect.* 2002; 51 (3): 233-235. doi: 10.1053/jhin.2002.1213.
  23. Vassey M, Budge C, Poolman T, Jones P, Perrett D, Nayuni N et al. A quantitative assessment of residual protein levels on dental instruments reprocessed by manual, ultrasonic and automated cleaning methods. *Br Dent J.* 2011; 210 (9): E14. doi: 10.1038/sj.bdj.2011.144.
  24. Walker JT, Dickinson J, Sutton JM, Raven NDH, Marsh PD. Cleanability of dental instruments - Implications of residual protein and risks from Creutzfeldt-Jakob disease. *Br Dent J.* 2007; 203 (7): 395-401. doi: 10.1038/bdj.2007.893.
  25. Gazmeh M, Bahreini M, Tavassoli SH, Asnaashari M. Qualitative analysis of teeth and evaluation of amalgam elements penetration into dental matrix using laser induced breakdown spectroscopy. *J Lasers Med Sci.* 2015; 6 (2): 67-73.

*Correspondencia / Correspondence:*  
**Rogelio Oliver Parra**  
**E-mail:** roliver@docentes.uat.edu.mx