



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA
APLICANDO DIFERENTES TIEMPOS DE PRE IRRADIACIÓN EN CONDUCTOS
RADICULARES CONTAMINADOS CON ENTEROCOCCUS FAECALIS; ESTUDIO
IN VITRO

Línea de investigación:

Biomateriales

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora:

Sante Medina, Margarita

Asesora:

Mejía Ticona, Lourdes Alicia
(ORCID: 0000-0001-8534-6454)

Jurado:

Mendoza Lupuche, Román
Veiga Sierra, Roberto
Peltroche Adrianzen, Nimia Olimpia

Lima - Perú

2023



Reporte de Análisis de Similitud

Archivo:	1A_Sante Medina Margarita_Título Profesional_2023
Fecha del Análisis:	05/05/2023
Operador del Programa Informático:	Kowashiro Diaz Miludska
Correo del Operador del Programa Informático:	mkowashiro@unfv.edu.pe
Porcentaje:	6%
Asesor:	Meiía Ticona, Lourdes Alicia
Título:	EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA APLICANDO DIFERENTES TIEMPOS DE PRE IRRADIACIÓN EN CONDUCTOS RADICULARES CONTAMINADOS CON ENTEROCOCCUS FAECALIS; ESTUDIO IN VITRO
Enlace:	https://secure.arkund.com/old/view/158796522-407672-764069#DclxDoAgEATAv1y9MbfAwelXjlUhaiikoTT+XSfzyD1kWRUE/wGMoIEZLaiSD BkFDjmDTLa1dvZ6t7rIYtOaonqxsD0y3b+wE=

Jefe de la Oficina de Grados y Gestión del Egresado:

AMÉRICO ALEJANDRO MUNAYCO MAGALLANES



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA APLICANDO
DIFERENTES TIEMPOS DE PRE IRRADIACIÓN EN CONDUCTOS RADICULARES
CONTAMINADOS CON ENTEROCOCCUS FAECALIS; ESTUDIO IN VITRO

Línea de investigación:

Biomateriales

Tesis para optar por el Título profesional de Cirujano Dentista

Autora:

Sante Medina, Margarita

Asesora:

Mejía Ticona, Lourdes Alicia

Jurado:

Mendoza Lupuche, Román

Veiga Sierra, Roberto

Peltroche Adrianzen, Nimia Olimpia

LIMA-PERÚ

2023

AGRADECIMIENTO

A Dios por la vida y por la familia que me dio.

A la Universidad Nacional Federico Villarreal por mi formación profesional.

A mi asesora Dra. Lourdes Mejía Ticona, por su constante apoyo y motivación a lo largo de
estos meses.

Al Dr. Luis Caffo Geldres, Dr. Sergio Jiménez Sánchez y Mg. TM. Roky Champi Merino,
por el tiempo brindado y los conocimientos impartidos.

DEDICATORIA

A mis padres Héctor Sante y Esther Medina, por su amor infinito, apoyo incondicional y por motivarme a cumplir mis metas, los amo.

INDICE

Resumen	
Abstrac	
I.Introducción	1
1.1 Descripción y formulación del problema.....	1
1.2 Antecedentes.....	3
1.3 Objetivos	5
-Objetivo General	5
-Objetivo Específico	6
1.4 Justificación	6
1.5 Hipótesis	6
II.Marco teórico	7
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	7
III.Método.....	16
3.1 Tipo de investigación.....	16
3.2 Ámbito temporal y espacial.....	16
3.3 Variables.....	16
3.4 Población y muestra.....	17
3.5 Instrumentos.....	19
3.6 Procedimientos.....	19
3.7 Análisis de datos.....	24
IV.Resultados.....	26
V.Discusión de resultados.....	30
VI.Conclusiones.....	33
VII.Recomendaciones.....	34

VIII.Referencias.....	35
IX.Anexos.....	41
Anexo A.....	41
Anexo B.....	42
Anexo C.....	43
Anexo D.....	44
Anexo E.....	45
Anexo F.....	52

Resumen

• **Objetivo:** Determinar la efectividad antimicrobiana de la terapia fotodinámica aplicando diferentes tiempos de pre irradiación en conductos radiculares contaminados con *Enterococcus faecalis* (Ef). **Método:** este estudio experimental in vitro se realizó en 40 premolares inferiores uniradiculares humanos, previa eliminación de impurezas con hipoclorito de sodio 2.5%, se procedió a uniformizar la longitud a 15 mm, después de la preparación biomecánica del conducto se procedió a la inoculación de Ef ATCC 29212 con jeringa de tuberculina hasta el sobrepase apical, para ser incubadas por 21 días a 37°C, finalmente fueron divididos en un grupo control y tres grupos experimentales para la aplicación de terapia fotodinámica (TFD) con una longitud de onda de 660nm., energía de 9J, azul de metileno al 0,005% y tiempos de pre irradiación de 1, 3 y 5 minutos. **Resultados:** el grupo control presentó mayor colonización de UFC/ml (26600,00) y, el grupo TFD con tiempo de pre irradiación a 5 minutos presentó menor colonización de UFC/ml (400,00). El coeficiente de correlación de Spearman fue negativa e inversa (-0,715); lo que indica a mayor tiempo de pre irradiación fue menor la formación de UFC/ml. En comparaciones múltiples entre los grupos de estudio y control observamos que los grupos; tiempo de pre irradiación 5 minutos-grupo control; tiempo de pre irradiación 3 minutos-grupo control y tiempo de pre irradiación 1minuto-grupo control fueron estadísticamente significativos ($p < 0,05$). **Conclusiones:** La terapia fotodinámica redujo las UFC/ml. de *Enterococcus faecalis*, independientemente a los tiempos de pre irradiación, siendo el de 5 minutos el que obtuvo menor conteo bacteriano. Se demostró utilidad en la reducción de UFC in vitro, pero se encontró limitaciones en la estandarización de metodología.

Palabras clave: *Enterococcus faecalis*, TFD, tiempo de pre irradiación, conductos radiculares, efectividad antimicrobiana.

Abstract

Objective: To determine the antimicrobial effectiveness of photodynamic therapy by applying different pre-irradiation times in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis* (EF).

Methodology: this experimental in vitro study was conducted in 40 human single-roots lower premolars, after removing impurities with sodium hypochlorite 2.5%, the length was standardized to 15 mm, after the biomechanical preparation of the duct proceeded to inoculated with EF ATCC 29212 with tuberculin syringe until the apical surpass, to be incubated for 21 days at 37°C, finally divided into a control group and three experimental groups for the application of photodynamic therapy (FDT) with a laser of wavelength 660 nm., 9J energy, 0.005% methylene blue and pre-irradiation times of 1, 3 and 5 minutes. **Results:** the control group presented greater colonization of CFU/ml (26600.00) and the PDT group with pre-irradiation time at 5 minutes presented a lower colonization of CFU/ml (400.00). Spearman's correlation coefficient was negative and inverse (-0.715); which indicates that, the longer the pre-irradiation laser exposure time, the lower the formation of CFU/ml. In multiple comparisons between the study and control groups we observed that the groups; FDT with pre irradiation time 5 minutes-control group; FDT with pre irradiation time 3 minutes-control group and FDT with pre-irradiation time 1minute-control group were statistically significant ($p < 0,05$). **Conclusions:** The Photodynamic therapy reduced CFU/ml. of *Enterococcus faecalis*, regardless of pre irradiation times, with 5 minutes being the one with the lowest bacterial count. It was shown to be useful in reducing CFU in vitro, but limitations were found in the standardization of methodology.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, FDT, pre-irradiation time, root canals, antimicrobial effectiveness

I.- INTRODUCCIÓN

La bacteria *Enterococcus faecalis* es considerada el microorganismo comúnmente localizado en conductos radiculares infectados, se aísla en modo de biopelículas, lo que la hace tener mayor resistencia a distintos tratamientos antimicrobianos. (Hamed et al., 2022) Por ello, la finalidad del tratamiento endodóntico es lograr la máxima desinfección de microorganismos y sus toxinas de los conductos radiculares, así como la prevención de una reinfección. (Siqueira, 2001)

El avance de la tecnología y el sustento científico ha permitido la aplicación de diferentes métodos terapéuticos para combatir las biopelículas en el área de endodoncia, como: aplicación de ozono, alternativas a base de aceites naturales antibacterianos y técnicas asistidas por láser, que incluye a la terapia fotodinámica. (Kishen, 2012)

En los últimos años se han venido reportando publicaciones donde describen diferentes técnicas del uso del láser para lograr disminuir la carga bacteriana en los conductos radiculares. Estas terapias son aliadas del tratamiento endodóntico convencional, ya que permiten reducir o tener un mejor control de las infecciones de origen pulpar, entre estas alternativas se encuentra la terapia fotodinámica. (Sahar-Helft et al., 2013)

La terapia fotodinámica asocia el uso de un colorante o fotosensibilizante no tóxico aplicado en el conducto radicular, que al absorber una luz monocromática de intensidad baja produce una serie de reacciones como formación de oxígeno singlete, que es el estado excitado de esta molécula, causando así un potente efecto bactericida. (Moan y Berg, 1991) Además, la aplicación del fotosensibilizante requiere un periodo de difusión, conocido como tiempo de pre irradiación el cual puede comprender varios minutos antes de ser irradiado con luz laser.

1.1. Descripción y formulario del problema

La desinfección del sistema de conductos radiculares es un aspecto clínico de relevancia en el área de endodoncia. Los instrumentos mecánicos por sí solos no son eficaces para reducir

los recuentos bacterianos en los conductos radiculares infectados debido a la compleja anatomía del sistema de conductos. Por ello, el tratamiento de endodoncia fallido está asociado con frecuencia a la presencia de bacterias dentro de los conductos radiculares. (Schiffner et al., 2014)

La bacteria *Enterococcus faecalis* ha sido el microorganismo más comúnmente encontrado en infecciones periapicales, debido a sus características específicas, tales como: capacidad de colonizar la dentina y los túbulos dentinarios, lo que dificulta su sola eliminación mediante la preparación mecánica, e incluso pueden resistir la medicación intracanal en los conductos radiculares por su gran potencial de invasión intra tubular, además de presentar algunos factores de virulencia. (Duggan y Sedgley, 2007)

La preparación químico-mecánica es el paso más importante en el control de la infección del conducto radicular, el uso de irrigantes con propiedades antibacterianas como el hipoclorito de sodio, clorhexidina y ácido etilendiaminotetraacético, resulta acertado, sin embargo, algunos de estos compuestos tienen efectos citotóxicos y neurotóxicos cuando se llega a los tejidos periapicales. (Arneiro et al., 2014) Otros factores a mencionar son la incapacidad de los irrigantes a penetrar los túbulos dentinarios sobre todo en la porción apical, y la resistencia de las distintas cepas bacterianas. (Orstavik y Haapasalo, 1990)

Con la finalidad de mejorar las capacidades y propiedades antimicrobianas del tratamiento convencional, se han propuesto nuevos enfoques, instrumentos y medicamentos. Entre ellos encontramos a la terapia fotodinámica, la cual se ha propuesto como una novedosa modalidad de tratamiento de manejo de infecciones de microorganismos. (Konopka y Goslinski, 2007)

Esta técnica puede lograr la muerte de distintos tipos de bacterias mediante el uso de fotosensibilizante exógenos como el cloruro de tolonio o el azul de metileno. Estudios in vitro han demostrado su capacidad para eliminar bacterias orales fotosensibilizadas como *E. faecalis*

y, más recientemente, se ha demostrado la destrucción de microorganismos in vivo en el sistema de conductos radiculares. (Lee et al., 2004)

Para la aplicación clínica de la terapia fotodinámica, se debe conocer la fuente de luz a emplear, el tipo y concentración del fotosensibilizante a usar y el tiempo de pre-irradiación, que se define como el tiempo en el cual el fotosensibilizante queda en contacto con la bacteria, se expresa en los minutos necesarios para que éste se difunda y luego sea irradiado con una fuente de luz como el láser de baja potencia. (Nunez et al., 2019)

De acuerdo a lo expresado se formula lo siguiente:

¿Cuál será la efectividad antimicrobiana de la terapia fotodinámica aplicando diferentes tiempos de pre irradiación en conductos radiculares contaminados con *Enterococcus faecalis*?

1.2. Antecedentes

Tenore et al. (2020) en Brasil, realizaron una investigación con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica usando un láser diodo de 635 nm y azul de toluidina, en la eliminación de *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de cincuenta y cuatro dientes monoradiculares, los cuales después de la preparación, esterilización e inoculación de las cepas, fueron divididos en seis grupos: grupo control negativo sin tratamiento; grupo control positivo con debridamiento químico mecánico e irrigación con NaOCl al 5%; grupo instrumentación mecánica con irrigación con NaCl al 0,9%, tiempo de pre irradiación (TPI) de 120 segundos y tiempo de irradiación (TI) de 150 segundos; grupo instrumentación mecánica con irrigación con NaCl al 0,9%, TPI de 30 segundos y TI de 30 segundos; grupo debridamiento químico mecánico irrigación con NaOCl al 5%, TPI de 120 segundos y TI de 150 segundos; grupo debridamiento químico mecánico irrigación con NaOCl al 5%, TPI de 30 segundos y TI de 30 segundos. Los resultados obtenidos en UFC/ml mostraron que la mayor reducción de carga bacteriana se dio en los dos últimos grupos con una tasa de supervivencia de 32,50% y 23,16%, llegando así a la conclusión que la terapia fotodinámica es

una técnica complementaria que mejora la capacidad de desinfección en el tratamiento endodóntico convencional independientemente de los tiempos empleados.

Furtado et al. (2020) en Brasil, publicaron un estudio que tuvo como objetivo evaluar la influencia de la terapia fotodinámica antimicrobiana (TFDa) de acuerdo al tiempo de pre irradiación en diferentes periodos de tiempo, evaluando la reducción de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Analizaron suspensiones estándar de *S. mutans* con un fotosensibilizante de azul de metileno al 0,005%, formando así cuatro grupos, cada uno de ellos con distintos tiempos de pre irradiación de 0, 1, 3 y 5 minutos e irradiados después con un láser rojo de 660nm por un tiempo de 90s. En el análisis del grupo de control se usó solución salina en lugar de azul de metileno y los resultados del grupo de TFDa se analizaron según el número de unidades formadoras de colonias (UFC)/ml, mediante las pruebas ANOVA y de Tukey. Los resultados de los grupos de TFDa evaluados lograron una mayor reducción bacteriana en comparación con el grupo control ($p < 0.05$) sin diferencia estadística entre los diferentes tiempos de pre irradiación. Se concluyó que merece atención el tiempo de pre irradiación antes de la aplicación de TFDa, ya que implica una reducción de tiempo clínico sin afectar la eficacia antibacteriana en el estudio in vitro según los parámetros empleados.

Fumes et al. (2018) en Brasil, publicaron un estudio donde evaluaron in vitro la influencia del tiempo de pre irradiación empleado en la terapia fotodinámica antimicrobiana con láser diodo. Utilizaron una muestra total de 30 cultivos de biopelículas, los cuales se dividieron en dos grupos de 15, uno utilizando cultivos de *Streptococcus mutans* y el otro con cultivos de *Candida albicans*, divididos aleatoriamente a su vez en cinco grupos. Los factores de estudio para cada grupo fueron el tiempo de pre irradiación del fotosensibilizante en tres niveles (1,2 y 5 min) con terapia fotodinámica anti microbiana empleando azul de metileno al 0,01% con láser diodo de 660nm., digluconato de clorhexidina al 0,12% y solución salina, estos dos últimos como control positivo y negativo respectivamente. Se midió la viabilidad

bacteriana, expresada en unidades formadoras de colonias por mililitro cuadrado de área de muestra. Los datos se analizaron con la prueba ANOVA unidireccional y post prueba de Tukey. En los resultados obtenidos para el grupo de *Streptococcus mutans*, solo la solución salina presentó una diferencia significativa en comparación con los otros tratamientos, por lo tanto, la TFDa independientemente del tiempo de preirradiación fue similar al tratamiento con clorhexidina y ambos fueron más efectivos en comparación con la solución salina, mientras que para el grupo de *Candida albicans* no hubo diferencias estadísticas entre los grupos observados.

Prazmo et al. (2017) en Polonia, publicaron un estudio cuyo objetivo fue investigar la efectividad de la terapia fotodinámica en la eliminación de *Enterococcus faecalis* en conductos monoradiculares de cuarenta y seis piezas dentarias, los cuales después de la preparación química mecánica fueron inoculados con dicha cepa bacteriana e incubados por una semana en condiciones microaeróbicas. Posterior a ello las muestras fueron divididas en cinco grupos: grupo control negativo, grupo control positivo, grupo de irrigación con NaOCl al 5,25%, grupo de ciclo único de TFD con láser diodo de 635nm e irrigación con NaCl al 0,9% y grupo de dos ciclos de TFD con láser diodo de 635nm e irrigación con NaCl al 0,9%. El conteo de colonias bacterianas halladas en los conductos radiculares se determinó mediante el conteo de unidades formadoras de colonias por mililitro UFC/ml. Los resultados obtenidos muestran que el grupo de NaOCl al 5,25% presentó mayor desinfección logrando una erradicación del 100%, mientras el grupo de dos ciclos de TFD erradicó el 95% de las biopelículas. Se concluyó que la desinfección fotoinducida puede ser utilizada como coadyuvante en el tratamiento endodóntico.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la efectividad antimicrobiana de la terapia fotodinámica

aplicando diferentes tiempos de pre irradiación en conductos radiculares contaminados con *Enterococcus faecalis*.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Describir el promedio y desviación estándar de UFC/ml. en los grupos de estudio y control.
- Evaluar la correlación de UFC/ml. entre los grupos de estudio y control.
- Determinar comparaciones múltiples entre los grupos de estudio y control, según los periodos de tiempo de pre irradiación.

1.4. Justificación

El control de la infección en los tratamientos de endodoncia es muy importante para asegurar el éxito. El presente trabajo de investigación aportará información en el uso de la terapia fotodinámica como alternativa para lograr la desinfección en los conductos radiculares contaminados con *Enterococcus faecalis*, bacteria asociada al fracaso del control bacteriano en endodoncia. Además, buscará evaluar la influencia de diferentes tiempos de pre irradiación menores a los usados convencionalmente, debido a que estos están asociados directamente a la eficacia de la terapia fotodinámica.

1.5. Hipótesis

La terapia fotodinámica es efectiva independientemente de los tiempos empleados de pre irradiación 1, 3 y 5 minutos en conductos radiculares contaminados con *Enterococcus faecalis* según el número de UFC/ml.

II.- MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

Según la Sociedad de Endodoncia Europea, la endodoncia se define como: la rama de la odontología que estudia la forma, función, lesiones y patologías de la pulpa dental y de la región perirradicular, así como su prevención y tratamiento; siendo la principal patología la periodontitis apical causada por infección. La etiología, el diagnóstico del dolor dental y patologías son partes integrales de la práctica endodóntica. (Gulabivala y Yuan-Ling, 2014)

La endodoncia es una ciencia de conocimientos ordenados que se integran con otras ciencias de la salud, tiene como objetivo estudiar la morfología, fisiología, patología y tratamiento de la pulpa dental. (Canalda y Brau, 2006)

El tratamiento de endodoncia incluye procedimientos diseñados para mantener la salud de toda o parte de la pulpa dental. Cuando la pulpa dental es lesionada o presenta alguna patología, el tratamiento se basa en la preservación del diente y los tejidos perirradiculares. En los casos que presenten una periodontitis apical, el tratamiento se basa en la restauración de la salud de dichos tejidos; generalmente se logra con un tratamiento de conductos y ocasionalmente en conjunto con cirugías endodónticas. (Gulabivala y Yuan-Ling, 2014)

Se sabe que muchas complicaciones como infecciones intra y extra radicales, quistes y reacciones a cuerpos extraños, están asociados a infecciones periradicales que persisten después de realizado el tratamiento del conducto radicular. (Siddiqui et al., 2013)

Las infecciones endodónticas se asocian con múltiples especies bacterianas. Las infecciones primarias del conducto radicular se asocian con biopelículas en las que predominan bacterias gram negativas, mientras que las biopelículas gram positivas son predominantes en infecciones endodónticas secundarias. (Siqueira, 2001)

Las infecciones endodónticas secundarias llamadas también persistentes, son la principal causa del fracaso del tratamiento pulpar, debido al riesgo de contaminación bacteriana

incluso después de la obturación de los conductos radiculares. (Hargreaves y Cohen, 2011) Es importante mencionar que hay bacterias que sobreviven a los efectos antimicrobianos de los materiales de irrigación, demostrando así suficiente virulencia para mantener constante la inflamación de los tejidos periradiculares. Las bacterias grampositivas, por ejemplo, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Basillus*, están presentes en mayor cantidad en muestras obtenidas tras la instrumentación en diversos estudios realizados. (Torabinejad y Walton, 2010)

Dentro del género *Enterococcus* tenemos a la especie *faecalis*, la cual es un anaerobio facultativo gram positivo, presente en el 24% al 77% del total de casos de infecciones endodónticas y periradiculares. (Stuart et al., 2006) Varios factores de virulencia y mecanismos de supervivencia desarrollados por esta bacteria, hacen que sea muy difícil de erradicar mediante métodos convencionales de preparación químico mecánica. (Barbosa-Ribeiro et al., 2016) La capacidad de competir con otros microorganismos, la invasión profunda de túbulos dentinarios, la formación de biopelículas, la resistencia a la escasez nutricional y la resistencia a antibióticos hacen que estos patógenos sea responsable de muchas fallas endodónticas. (Prazmo et al., 2017)

La capacidad formadora de biofilms del *Enterococcus faecalis* muestra una importante evidencia de que esta bacteria puede colonizar los conductos radiculares. Cuando esta especie desarrolla biofilms, es mucho más resistente a la acción de los antimicrobianos que cuando se encuentra como bacteria planctónica suspendida en medio líquido no adherida. (Costerton et al., 1999)

2.1.1. Preparación biomecánica

Algunos microorganismos presentes en el conducto radicular pueden ser eliminados tempranamente por ciertos procedimientos, sin embargo, aquellos que han penetrado áreas inaccesibles de los conductos radiculares formando biofilms fomentan o mantienen el cuadro

infeccioso. Es por este motivo que una adecuada preparación biomecánica del conducto radicular favorece la eliminación de bacterias para asegurar el éxito del tratamiento de endodoncia. (Hargreaves y Cohen, 2011)

El éxito de la endodoncia depende de diversos factores como la preparación mecánica, la desinfección y la obturación tridimensional. La limpieza y conformación de los conductos radiculares es el paso primordial para dicho éxito. (Shaheen et al., 2013)

2.1.2. Procedimiento mecánico

El objetivo ideal de la preparación mecánica es que todas las superficies del conducto radicular sean preparadas para lograr una óptima desinfección, aún en lugares de difícil acceso, sin embargo, hay que evitar una sobre instrumentación para no debilitar la estructura radicular. (Ghorbanzadeh, et al., 2016)

La conformación del conducto radicular es vital para lograr una desinfección óptima, ya que se relaciona directamente con la remoción de la pulpa y dentina infectada, así como la creación del espacio necesario para que se difunda el irrigante. Es por esto que el profesional clínico debe tomar la mejor decisión en cuanto a estrategia, instrumentación y dispositivos para combatir los microorganismos que puedan estar presentes a nivel del conducto radicular. (Hargreaves y Cohen, 2011)

El conducto radicular debe presentar una conicidad adecuada para permitir una correcta irrigación y facilitar la obturación, pero un excesivo agrandamiento debilita innecesariamente la estructura radicular. (Zandbiglari et al., 2006) En la instrumentación del conducto radicular es donde se produce la mayor remoción de dentina, los investigadores han encontrado que ocurre en mayor dirección mesial y distal. (Shahriari et al., 2009) El espesor de la dentina remanente luego de la instrumentación influye directamente en la resistencia a la fractura radicular. (Bier et al., 2009)

Convencionalmente, la instrumentación endodóntica era realizada con limas manuales. Sin embargo, las limas que inicialmente eran fabricadas de acero carbono eran susceptibles a fracturas y corrosión, lo que dio paso al uso de limas de acero inoxidable, las cuales tenían sus propias limitaciones como roturas, poca flexibilidad y variación de conicidad. Por ello, para superar estos inconvenientes, surgen los instrumentos de níquel titanio (NiTi). Sin embargo, sigue siendo un gran desafío para todos los sistemas de limas lograr una óptima preparación del canal radicular sin cortar de forma excesiva la dentina. (Gupta et al., 2015)

La nueva generación de instrumentos fabricados de una aleación de NiTi ha aportado una sorprendente nueva dimensión en el área de endodoncia, propiedades como la elasticidad le permite volver a su forma original luego de una deformación significativa, permitiendo así adaptarse a las curvaturas del canal radicular y resistir la fractura. El desarrollo y comercialización de estos instrumentos ha sido un importante avance en la endodoncia, debido a que han reducido errores de procedimiento, la fatiga del operador y la duración del tiempo clínico. (Ingle y Bakland, 2002)

2.1.3. Sistema ProTaper Next

ProTaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) es un sistema rotatorio fabricado con la aleación M-Wire NiTi, obtenido por un proceso térmico especial, cuyo objetivo es mejorar la flexibilidad y la resistencia a la fatiga cíclica de los instrumentos, con ello se espera tener mayor resistencia y menor desgaste que los instrumentos fabricados con una aleación de NiTi convencional. (Patel, 2016) La aleación de tipo M-Wire se obtiene mediante procesamientos termomecánicos patentados (Sportswire LLC, Langley, OK) con la finalidad de fabricar piezas que contengan una cantidad sustancial de martensita estable en condiciones clínicas debido a su microestructura nanocristalina única. (Ye y Gao, 2011)

Las limas ProTaper Next tiene un diseño con conicidad variable y sección transversal rectangular bilateral para una mayor resistencia y un movimiento rotatorio único asimétrico

que mejora la efectividad de la conformación del conducto radicular según lo descrito por el fabricante. Esta característica en su diseño produce un fenómeno de rotación conocido como "swaggering" o contorneo, el cual minimiza aún más el contacto entre los bordes del instrumento y la pared dentinaria durante la instrumentación. Además, la sección transversal descentrada presente en este tipo de instrumentos da como resultado una mayor eficacia de corte. (Patel, 2016)

El sistema de limas ProTaper Next consta de cinco instrumentos de diferentes conicidades los cuales son: X1 (17/.04), X2 (25/.06), X3 (30/.07), X4 (40/.06) y X5 (50/.06), los dos primeros son clasificados como instrumentos de conformación y los tres últimos como instrumentos opcionales. Se recomienda usar los instrumentos ProTaper Next a 300 rpm. hasta alcanzar la longitud de trabajo y conicidad deseada. (Dentsply Maillefer, 2017)

Debido a los beneficios que ofrece este sistema de instrumentos rotatorios, se han realizado diversas investigaciones para comprobar sus propiedades, por ejemplo, Arias et al. (2014) evaluaron el torque y la fuerza máxima entre los instrumentos ProTaper Universal y ProTaper Next en el proceso de preparación de conductos radiculares amplios y estrechos, dando como resultado que los instrumentos ProTaper Next mostraron una mayor regularidad en el torque máximo para ambos tipos de canales radiculares que los instrumentos ProTaper Universal. Por otra parte, Elnaghy y Elsaka (2014) compararon la resistencia a la flexibilidad, a la torsión y la microdureza superficial de tres tipos de sistemas rotatorios ProTaper Next, Twisted Files y RaCe, los resultados mostraron que ProTaper Next mostró mejor resistencia a las fuerzas de torsión y al desgaste en comparación con los otros dos sistemas mencionados, en cuanto a la flexibilidad Twisted Files mostró una ligera ventaja en comparación con otras marcas estudiadas.

2.1.4. Procedimiento químico

El uso de desinfectantes se realiza convencionalmente mediante irrigación manual con agujas especiales tipo Navitip. Al tener conductos radiculares debidamente conformados se puede incrementar el nivel de desinfección, sin embargo, la limpieza de la región apical sigue siendo complicada, en especial cuando hay casos de conductos estrechos o curvos. (Hargreaves y Cohen, 2011)

La hidrodinámica de la irrigación consiste en el flujo, penetración e intercambio dentro del conducto radicular, de las fuerzas que se generan al aplicar sustancias irrigadoras. Las distintas formas de irrigación contribuyen a llegar a una desinfección predecible, por lo tanto, la descarga de irrigantes es igual de importante como las características antibacterianas que presenten. (Hargreaves y Cohen, 2011)

Los irrigantes deben cumplir con ciertos requisitos, uno de ellos es la efectividad contra diferentes microorganismos, tanto en su estado planctónico como en biofilms. El irrigante debe inactivar las endotoxinas, ser una solución no tóxica para los tejidos vivos y no ser causa de reacciones anafilácticas. (Hargreaves y Cohen, 2011)

El NaOCl es un compuesto halógeno, cuya función primordial es disolver los restos de tejido, además destruye bacterias, neutralizando sus componentes y productos antigénicos. Es utilizado en distintas concentraciones que van desde 0,5 hasta 5,25%, a mayor concentración mayor son sus propiedades solventes y antibacterianas, pero también se incrementa su toxicidad. Esta sustancia actúa alterando la biosíntesis del metabolismo celular con la formación de cloraminas, además destruyen fosfolípidos presentes en la pared celular, poseen una acción oxidativa e inactivación enzimática que es irreversible en los microorganismos, degrada de ácidos grasos y lípidos, además de producir variaciones en el colágeno de la dentina. (Canalda y Brau, 2006)

El NaOCl, es una de las soluciones irrigadoras de mayor preferencia para los tratamientos de endodoncia, dada su capacidad de disolver tejido necrótico, tejido vital, componentes orgánicos de la dentina y el biofilm. (Hargreaves y Cohen, 2011) La acción bactericida y de disolución de tejidos del NaOCl puede ser modificada por tres factores: concentración, temperatura y pH de la solución. (Estrela et al., 2002)

Se ha estudiado la efectividad de diferentes concentraciones de NaOCl con respecto a su acción solvente y bactericida. Diversos investigadores están de acuerdo en que las soluciones con una concentración más alta son más efectivas que las soluciones con concentraciones más bajas, sin embargo, el riesgo de accidentes empleando NaOCl está siempre presente durante los tratamientos endodónticos. (Estrela et al., 2002)

Clegg et al. (2006) refieren que la única concentración capaz de remover físicamente la capa de biofilm y volver no viables las bacterias es empleando NaOCl al 6%; por otro lado, Carson et al. (2005) estudiaron distintas zonas de inhibición bacteriana de varias soluciones y llegaron a la conclusión que la solución de NaOCl al 6% es más efectiva que al 3%; Spanó et al. (2001) concluyeron en su investigación que la solución de NaOCl al 5% disuelve los tejidos pulpares necróticos con mayor rapidez que la solución al 2.5%.

Sin embargo, Siqueira et al. (2000) encontraron que la concentración de la solución de hipoclorito de sodio no es tan importante como el cambio constante de la solución y su uso en cantidades significativas.

Pécora et al. (1997) refieren que un factor importante a considerar relacionado con la utilización del NaOCl, es que con el paso del tiempo disminuye la concentración del cloro dependiendo del tipo de almacenamiento, encontrando así, que la solución pierde un 4,6% de cloro cuando se almacena a temperatura ambiente.

2.1.5 Terapia Fotodinámica

La terapia fotodinámica fue inicialmente desarrollada para el tratamiento del cáncer, hoy en día a venido siendo investigada también para el tratamiento de enfermedades infecciosas en múltiples áreas del campo de salud. (Dai et al., 2009)

La terapia fotodinámica se presenta como una terapia prometedora que puede eliminar los microorganismos presentes en las infecciones endodónticas. Este tratamiento se basa en el uso de un agente fotosensibilizante no tóxico seguido de la irradiación de una fuente de luz láser, los cuales en presencia de oxígeno son capaces de generar oxígeno singlete, especie altamente reactiva y nociva para los microorganismos. (De Oliveira et al., 2014)

Debido a que la gran mayoría de microorganismos orales no absorbe la luz visible de los sistemas láser, es necesaria la utilización de un fotosensibilizante que se fije a ellos, atrayendo la luz del láser. Cuando el fotosensibilizante es irradiado con una luz de longitud de onda adecuada, la molécula es excitada produciendo una serie de transferencias de energía molecular. (Silva et al., 2011) La interacción entre los fotosensibilizantes y los microorganismos se produce en pocos minutos, y este periodo se denomina tiempo de pre irradiación (TPI), el cual debe respetarse antes de que comience la irradiación con luz láser. (Convissar, 2011)

Existen varios fotosensibilizantes para realizar la Terapia Fotodinámica, sin embargo, la desinfección de los patógenos orales generalmente necesita el uso de fotosensibilizantes con carga catiónica, como el azul de toluidina o el azul de metileno a concentraciones de 0.01% o 0.005%. (Convissar, 2011) El uso de concentraciones mayores puede formar agregados que alteran la absorción de la fuente de luz, así como alteraciones de tinción en las superficies de los dientes tratados después de la aplicación de la terapia fotodinámica. (Nunez et al., 2019)

El azul de metileno es un fotosensibilizante perteneciente al grupo de las fenotiazinas de carga positiva tricíclico y según su mecanismo de acción pertenece al grupo fotodinámicos,

el cual es activado por una fuente de luz monocromática a una longitud de onda que va en un rango de 610 a 660 nm. (Núñez et al., 2013) El azul de metileno puede penetrar tanto en bacterias grampositivas como en gramnegativas, gracias a su hidrofilia y bajo peso molecular, lo cual le permite pasar a través de los canales de proteínas, para unirse a la membrana bacteriana externa. (Soukos y Goodson, 2011)

En la terapia fotodinámica la fuente de luz tiene una gama que va desde los 400 nm a los 700nm; pero la más utilizada son las mayores a 600nm., esto se debe a que las moléculas endógenas como hemoglobina, absorben una mayor cantidad de luz en dicha longitud de onda, logrando así captar mayor cantidad de fotones. Las distintas fuentes de luz en este tipo de terapia muestran variación de distancias de ondas electromagnéticas que logran causar una superposición de ondas creando interrupciones; cuando estas ondas se añaden o substraen entre ellas originan fuerzas máximas o mínimas que van a ser utilizadas para la inactivación de los microorganismos. (Soukos y Goodson, 2011)

Otras características importantes a mencionar sobre las fuentes de luz, son que estas deben ser monocromáticas y de banda espectral estrecha, que puedan acoplarse a una fibra óptica y no causar aumento de temperatura hísticas como se observan en las fuentes de luz policromáticas. (Convissar, 2011)

III.- MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

Experimental - In Vitro

Comparativo

Transversal

Prospectivo

3.2 Ámbito temporal y espacial

El desarrollo de la presente investigación se llevó a cabo en los meses de abril del 2022 hasta marzo del 2023. El desarrollo experimental de los grupos de estudio se realizó en la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villareal (Anexo A) y la parte microbiológica como replicación, siembra y posterior conteo en UFC/ml se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue, para lo cual se cumplió con los trámites de gestión correspondientes (Anexo B).

3.3 Variables

3.3.1. Variable Independiente

Terapia fotodinámica con un tiempo de pre irradiación de 1 minuto.

Terapia fotodinámica con un tiempo de pre irradiación de 3 minutos.

Terapia fotodinámica con un tiempo de pre irradiación de 5 minutos.

3.3.2. Variable Dependiente

Efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica en la desinfección de conductos radiculares.

3.3.3. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	TIPO	ESCALA	VALORES
Efecto antimicrobiano	Eliminación o disminución de la carga bacteriana de anaerobio facultativo Gram positivo	Unidades formadoras de colonias	Cuantitativa	Razón	0 – X colonias
Tiempo de pre irradiación	Periodo en el cual el fotosensibilizante es absorbido por las bacterias	Minutos	Cuantitativa	Nominal	1 minuto 3 minutos 5 minutos

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población

Estuvo constituida por piezas dentarias humanas premolares inferiores unirradiculares extraídas por razones ajenas al estudio.

3.4.2 Muestra

El tamaño de muestra de la investigación fue calculado mediante la siguiente fórmula para comparar medias, se consideró un nivel de confianza del 99%, una potencia de 80% y los parámetros de desviación estándar fueron tomados de un estudio previo de Tenore et al. (2020).

$$n = \frac{2 * (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * S^2}{d^2}$$

$$n = \frac{2*(2.58 + 0.84)^2*0.98}{2^2} = 8$$

Donde:

Coeficiente de confianza 99%	Z_{α}	2.58
Coeficiente de potencia de prueba 80%	Z_{β}	0.84
Desviación estándar grupo control	S	0.98*
Diferencia mínima para detectar	d	2
Tamaño de muestra	n	8

*Valor obtenido de la variabilidad del grupo control del estudio de Tenore et al. (2020)

El tamaño de muestra mínimo calculado fue de 8 piezas, por ello en la investigación se decidió trabajar con 10 piezas por grupo de estudio. Como se evaluó un total de cuatro grupos, obtuvimos como resultado un total de 40 piezas.

Criterios de selección. Estos criterios a su vez se dividen en dos

Criterios de inclusión:

- Dientes premolares inferiores con un solo conducto radicular.
- Dientes premolares inferiores unirradiculares íntegros en corona y raíz.
- Dientes premolares inferiores unirradiculares recientemente extraídos.
- Dientes premolares inferiores unirradiculares conservados en suero fisiológico.

Criterios de exclusión:

- Dientes premolares inferiores con fisuras y fracturas.
- Dientes premolares inferiores multirradiculares con bifurcaciones.

- Dientes premolares inferiores con foramen apical abierto, reabsorción raíz.
- Dientes premolares inferiores con endodoncia previa.
- Dientes premolares inferiores con curvaturas y calcificaciones.

3.5 Instrumentos

Se empleó un método observacional que incluyó una ficha de recolección de datos para registrar todas las muestras de los grupos de investigación y los valores del recuento bacteriano posterior a los diferentes tiempos de pre irradiación, todos expresados en unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) a cargo del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue UNHU. (Anexo C)

3.6 Procedimientos

3.6.1. Recolección de la muestra

Se recolectaron dientes premolares inferiores monorradiculares extraídos por razones ajenas al estudio, los cuales fueron sumergidos un recipiente con una solución de hipoclorito de sodio al 4% por un tiempo de 2 horas para eliminar impurezas, posteriormente fueron conservados e hidratados en suero fisiológico a temperatura ambiente.

3.6.2 Selección de la muestra

Se seleccionaron 40 dientes premolares inferiores monorradiculares de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión de la muestra del presente estudio experimental in vitro. Se comprobó la presencia de un solo conducto mediante la toma de radiografías periapicales tomadas en 2 angulaciones distintas, buco-lingual y mesio-distal.

3.6.3 Preparación de la muestra

Luego de seleccionar las piezas dentarias con un solo conducto, se seccionaron las coronas de dichas piezas con un micromotor STRONG210 (Saeshin Precision Co., Ltd., Daegu, Corea del Sur) y un disco de corte DIAMOND DISC (Hm22D20) a 35000 rpm (revoluciones por minuto) para lograr una estandarización de la longitud a 15mm, ello permitió tener

condiciones similares entre cada muestra en la preparación del conducto y en la aplicación de la terapia fotodinámica.

La longitud de trabajo se consideró 1 mm antes del foramen apical con limas tipo K #10 (Dentply/Maillefer, Suiza). Los conductos radiculares fueron instrumentados con instrumentos rotatorios ProTaper Next (Dentply/Maillefer, Suiza) usando limas X1, X2 y X3, irrigando los conductos con 5cc. de hipoclorito de sodio al 2.5% con una aguja NaviTip 30-G (Ultradent, South Jordan, UT, EE.UU.) entre cada cambio de lima rotatoria. Una vez que finalizada la instrumentación, los conductos fueron irrigados con 3 ml de EDTA al 17% (Maquira, Maringá, Brasil), luego se irrigó con solución fisiológica al 0,9% y se secó con conos de papel.

Se continuó el procedimiento colocando cada pieza dentaria en tubos crioviales debidamente rotulados, dichas piezas fueron fijadas en bloques de silicona Zetaplus (Zhermack SpA, Badia Polesine, Italia) y fueron esterilizadas con vapor durante 20 minutos a una presión de 15 psi a 121 °C.

3.6.4. Inoculación de la cepa bacteriana

Los procedimientos de siembra de cepas estándar de *E. faecalis* ATCC 29212 se realizaron en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Todos los procedimientos se realizaron usando un mechero de Bunsen, cercano al área de trabajo con un radio de 15 cm., para proporcionar un ambiente idóneo. La cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue preparada en el medio Agar tripticasa soya (TSA), posteriormente se colocó en la placa petri y luego fue incubada por 24 horas a 37 °C, de acuerdo a la investigación de Tenore et al. (2020).

Posterior a ello, se procedió con la siembra de colonias de *Enterococcus faecalis* utilizando el método de aislamiento por agotamiento de placa con la ayuda de un asa de siembra en un medio de agar sangre con base infusión cerebro corazón (BHI) y se dejó incubar por 24

horas a 37°C para su crecimiento. Los inóculos de cepa *Enterococcus faecalis* fueron preparados en solución salina estéril, con un patrón de turbidez equivalente a 0.5 McFarland y la densidad óptica se medirá usando un turbidímetro (MicroScanturbidetMiller. SIEMENS. USA) a una longitud de onda de 620 nm y a una concentración equivalente a $1.5 - 2.0 \times 10^8$ UFC/ml. Seguidamente, dicha suspensión bacteriana se mezcló con BHI en proporciones iguales, es decir, en una relación 1:1. Seguidamente, se inoculó la suspensión bacteriana con una jeringa de tuberculina de 1 ml y aguja Navitip 30G (Ultradent, South Jordan, UT, EE.UU.) en cada conducto radicular de las piezas dentarias hasta llenarlo por completo y llegar a visualizar el sobrepase en la porción apical, luego se secó con gasa estéril el ápice radicular para poder sellar el foramen apical con una resina fotopolimerizable Filtek™ Z350 XT Flow (3M ESPE) y evitar la filtración de bacterias durante el proceso de inoculación. Para la formación de cultivos bacterianos, las piezas dentarias fueron incubadas durante 21 días a 37°C., durante este periodo se fue realimentando dichos cultivos presentes en los conductos radiculares de nuestra muestra cada 48 horas por nueva suspensión bacteriana con BHI estéril, según lo descrito en la investigación de Torres et al. (2020).

Finalmente, las muestras fueron divididas aleatoriamente en 4 grupos (n=10): un grupo control y tres grupos experimentales para la aplicación de la terapia fotodinámica con tiempos de pre-irradiación de 1, 3 y 5 minutos.

3.6.5. Procedimiento experimental

Grupo control. 10 premolares inferiores seleccionados aleatoriamente fueron irrigados en cada conducto radicular con 5 ml de cloruro de sodio al 0,9% y luego se tomó una muestra de los conductos radiculares para evaluar el conteo bacteriano por UFC/ml.

Grupo TFD 1. 10 premolares inferiores fueron seleccionados aleatoriamente, como primer paso se eliminó el exceso del medio de cultivo de los conductos radiculares, para ello se irrigó con suero fisiológico (NaCl al 0.9%) y se secó el conducto con conos de papel

estériles, posterior a ello se aplicó el fotosensibilizante, en este caso Chimiolux azul de metileno al 0.005% (DMC, São Paulo, Brasil) con la ayuda de una aguja Navitip 30G (Ultradent, South Jordan, UT, EE.UU) en cada conducto radicular y se dejó por 1 minuto como tiempo de pre irradiación, seguidamente se aplicó la irradiación con un dispositivo láser Therapy XT (DMC, São Paulo, Brasil) de 660nm con una potencia de 100mW a través de una fibra de 200 micras de diámetro con movimientos helicoidales para permitir la correcta distribución de la luz por 90 segundos, con una energía de 9J.

Grupo TFD 2. 10 premolares inferiores fueron seleccionados aleatoriamente, como primer paso se eliminó el exceso del medio de cultivo de los conductos radiculares, para ello se irrigó con suero fisiológico (NaCl al 0.9%) y se secó el conducto con conos de papel estériles, posterior a ello se aplicó el fotosensibilizante, en este caso Chimiolux azul de metileno al 0.005% (DMC, São Paulo, Brasil) con la ayuda de una aguja Navitip 30G (Ultradent, South Jordan, UT, EE.UU) en cada conducto radicular y se dejó por 3 minutos como tiempo de pre irradiación, seguidamente se aplicó la irradiación con un dispositivo láser Therapy XT (DMC, São Paulo, Brasil) de 660nm con una potencia de 100mW a través de una fibra de 200 micras de diámetro con movimientos helicoidales para permitir la correcta distribución de la luz por 90 segundos, con una energía de 9J.

Grupo TFD 3. 10 premolares inferiores fueron seleccionados aleatoriamente, como primer paso se eliminó el exceso del medio de cultivo de los conductos radiculares, para ello se irrigó con suero fisiológico (NaCl al 0.9%) y se secó el conducto con conos de papel estériles, posterior a ello se aplicó el fotosensibilizante, en este caso Chimiolux azul de metileno al 0.005% (DMC, São Paulo, Brasil) con la ayuda de una aguja Navitip 30G (Ultradent, South Jordan, UT, EE.UU) en cada conducto radicular y se dejó por 5 minutos como tiempo de pre irradiación, seguidamente se aplicó la irradiación con un dispositivo láser

Therapy XT (DMC, São Paulo, Brasil) de 660nm con una potencia de 100mW a través de una fibra de 200 micras de diámetro con movimientos helicoidales para permitir la correcta distribución de la luz por 90 segundos, con una energía de 9J.

Para la aplicación de terapia fotodinámica se tomó como referencia los parámetros de potencia, intensidad, tiempo de irradiación y energía de la investigación de Furtado et al. (2020).

3.6.6. Toma de muestra

Después de los procedimientos anteriores, se llenó cada conducto radicular de los 4 grupos totales con 2 ml de cloruro de sodio al 0,9% usando una jeringa estéril y aguja NaviTip 30G (Ultradent, South Jordan, UT, EE.UU). Seguidamente se colocó en cada conducto un cono de papel 30.04 (Spident Co., Ltd., Incheon, Corea del Sur) y se agitó en forma circular para hacer contacto con las paredes del conducto radicular durante 30 segundos para tomar las respectivas muestras. Luego, dichos conos de papel se colocaron en tubos crioviales estériles, para posteriormente ser almacenados en una caja autoclavable, la cual se guardó en un contenedor con hielo para mantener una temperatura adecuada hasta su traslado al laboratorio.

Se utilizó el método de agotamiento de asa para la siembra bacteriana, en primer lugar, se agregó 1 ml de cloruro de sodio al 0.9% en cada tubo criovial con cono de papel, luego se agitó por 60 segundos para que la muestra se homogenice. Posterior a ello, se tomó una muestra de 1 µl con un asa calibrada estéril y se procedió al sembrado en Agar Enterococcosel (selectivo para Enterococcus) a 37°C durante 48 horas. Se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de cada uno de los cuatro grupos totales mediante el método de recuento por placa que fué calculado y expresado en UFC/ml.

3.6.7. Capacitación y calibración

Se recibió la capacitación y calibración intra e inter operador sobre el empleo de los Sistemas Láser y el protocolo de aplicación de la Terapia Fotodinámica, la cual estuvo a cargo

del Dr. Sergio M. Jiménez Sánchez, Docente de la UCSUR y presidente del Grupo de Estudio Láser en Odontología (GELO - Perú), entidad académica que realizó la supervisión de los aspectos láser del proyecto. La capacitación y calibración del manejo endodóntico estará a cargo del Departamento de Endodoncia de la FO-UNFV.

3.6.8. Aleatorización

Se realizó una aleatorización o randomización de cada diente premolar inferior extraído de acuerdo a cada grupo de investigación usando un muestreo aleatorio simple, para lo cual se colocará un código numérico a cada pieza dentaria, luego se empleará el programa Microsoft Excel para la respectiva aleatorización.

3.7 Análisis de datos

Los datos que se obtuvieron en el estudio serán analizados mediante estadística inferencial y descriptiva con el uso de un programa estadístico SPSS y el programa Microsoft Excel 2016. Primeramente, se elaborará una base de datos en Microsoft Excel con los datos obtenidos del experimento a realizar, debido a que los valores del recuento bacteriano se expresarán en unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) y estos son de naturaleza cuantitativo, se calcularon las medidas de tendencia central como la media, valores mínimos - máximos y medidas de dispersión (desviación estándar) para su análisis estadístico descriptivo. Los datos que se obtuvieron fueron presentados en tablas con los valores descriptivos calculados.

Para el análisis estadístico inferencial, debido a que los datos no cumplieron con el principio de normalidad se utilizó la prueba de Rho de Spearman para correlaciones no paramétricas. Además, se muestras comparaciones múltiples entre los distintos grupos de estudio.

3.8 Consideraciones éticas

Para el presente estudio experimental in vitro se contó con una ficha de consentimiento informado de los pacientes para la donación voluntaria de piezas dentarias premolares con fines ajenos al estudio, que evitó la vulnerabilidad de la ética en el procedimiento. (Anexo D) Además el presente trabajo de investigación fue evaluado y aceptado tanto por el comité de ética de la facultad de odontología UNFV y el comité de ética del HNHU, respetó las normas establecidas para su elaboración y los datos no serán desvirtuados.

IV. RESULTADOS

Este estudio de tipo experimental se realizó en una muestra de 40 especies premolares uniradiculares humanos y divididos aleatoriamente en 4 grupos. Los resultados de los grupos se sometieron a prueba de normalidad para decidir aplicación del tipo de prueba estadística. Se aplicó pruebas estadísticas no paramétricas y, para comparaciones múltiples no paramétricas se aplicó la prueba H de Kruskal Wallis. Los resultados se presentan en tablas y figuras.

Tabla 1

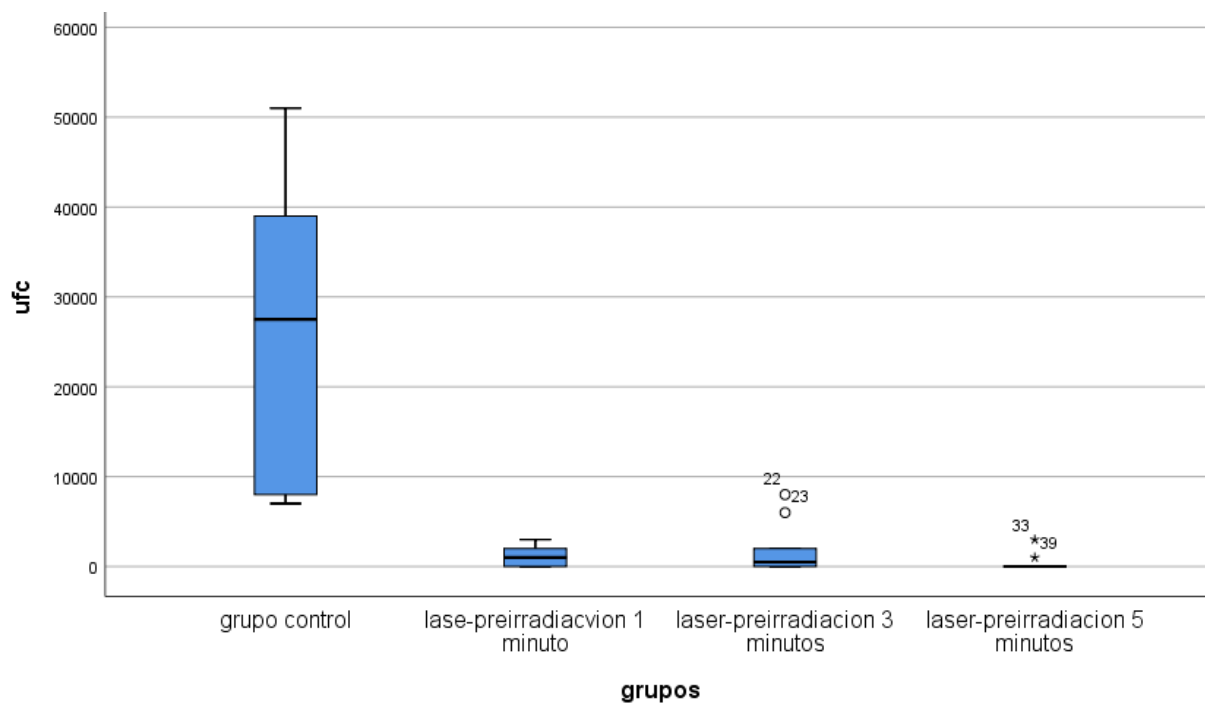
Promedio y desviación estándar de UFC/ml en grupos de estudio y control

	UFC/ml			
	Media	DS	Mínimo	Máximo
Grupo Control	26600,00	17231,754	7000	51000
TFD pre-irradiación 1 min.	1200,00	1229,273	0	3000
TFD pre-irradiación 3 min.	1800,00	2859,681	0	8000
TFD pre-irradiación 5 min.	400,00	966,092	0	3000

Nota. En la tabla 1, observamos que el grupo control presentó mayor colonización de *UFC/ml* (26600,00) y, el grupo láser pre irradiación a 5 minutos presentó menor promedio de colonización de *UFC/ml* (400,00).

Figura 1

Promedio y desviación estándar de UFC/ml en grupos de estudio y control

**Tabla 2**

Correlación de UFC/ml entre los grupos de estudio y control

Correlaciones no paramétricas			
		Grupos	UFC
Rho de Spearman	Grupos	Coefficiente de correlación	1,000
		Sig. (bilateral)	.
		N	40
	UFC	Coefficiente de correlación	-0,715**
		Sig. (bilateral)	0,000
		N	40

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral)

Nota. En la tabla 2, observamos que el coeficiente de correlación de Spearman fue negativa e inversa (-0,715); lo que indica que, a mayor tiempo de pre irradiación fue menor la formación de UFC/ml.

Tabla 3

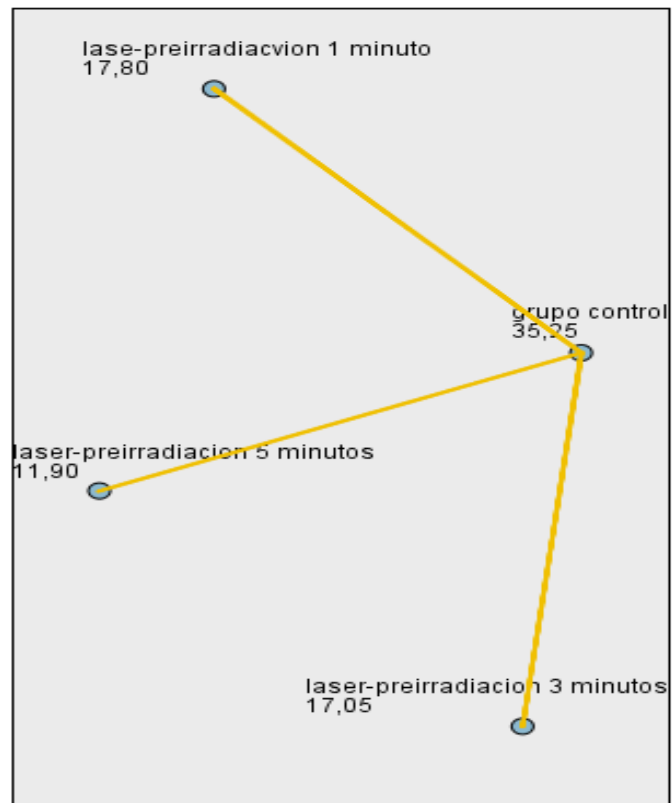
Comparaciones múltiples entre grupos de estudio y control según periodo de tiempo

Muestra1 – Muestra2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
TFD pre-irradiación 5 min. TFD pre-irradiación 3 min.	5,150	5,016	1,027	,305	1,000
TFD pre- irradiación 5 min. TFD pre- irradiación 1 min.	5,900	5,016	1,176	,240	1,000
TFD pre- irradiación 5 min. Grupo control	23,350	5,016	4,655	,000	,000
TFD pre- irradiación 3 min. TFD pre- irradiación 1 min.	,750	5,016	,150	,881	1,000
TFD pre- irradiación 3 min. Grupo control	18,200	5,016	3,628	,000	,0002
TFD pre- irradiación 1 min. Grupo control	17,450	5,016	3,479	,001	,003

Nota. En la tabla 3, en comparaciones múltiples entre los grupos de estudio y control observamos que las comparaciones de los grupos; TFD con pre irradiación 5 minutos-grupo control; TFD con pre irradiación 3 minutos-grupo control y TFD con pre irradiación 1 minuto-grupo control fueron estadísticamente significativos ($p < 0,05$).

Figura 2

Comparaciones múltiples entre grupos de estudio y control según periodo de tiempo

Comparaciones entre parejas de grupos

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La desinfección de los conductos radiculares es un aspecto clínico de gran relevancia en el área de endodoncia, por ello reducir el recuento de bacterias en los conductos radiculares con los sistemas convencionales se vuelve complejo debido múltiples factores. En consecuencia, el tratamiento de endodoncia fallido se asocia de forma recurrente a la presencia de bacterias dentro de los conductos radiculares. (Schiffner et al., 2014)

La bacteria *Enterococcus faecalis* es el microorganismo con mayor presencia en infecciones periapicales, debido a su capacidad de colonizar la dentina y gran potencial de invasión intra tubular lo que dificulta su sola eliminación. (Duggan y Sedgley, 2007)

Con el fin de mejorar las capacidades antimicrobianas del tratamiento convencional, se han propuesto nuevos enfoques. Entre ellos está la terapia fotodinámica, la cual se propone como una novedosa modalidad de tratamiento contra infecciones de microorganismos. (Konopka y Goslinski, 2007) Para su aplicación clínica, se debe conocer la fuente de luz, el tipo de fotosensibilizante y el tiempo de pre-irradiación, que se expresa en los minutos necesarios para que el fotosensibilizante se difunda en las bacterias y luego ser irradiado por una fuente de luz como el láser de baja potencia. (Nunez et al., 2019)

Tenore et al. (2020), estudiaron el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica usando láser y azul de toluidina, en la eliminación de *Enterococcus faecalis*, las muestras se dividieron en seis grupos para evaluar la efectividad del tratamiento endodóntico químico-mecánico, la terapia fotodinámica con irrigación de NaCl al 0,9% y terapia fotodinámica en combinación con el tratamiento químico-mecánico. Los resultados obtenidos mostraron que la mayor reducción de carga bacteriana se dio en las muestras tratadas con terapia fotodinámica, similar a nuestra investigación. Los factores a considerar son el empleo de diferentes tiempos de pre-irradiación, el fotosensibilizante que se usó y la combinación con un irrigante como el hipoclorito de sodio al 5,25%.

Furtado et al. (2020) evaluaron el efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica frente al *Streptococcus mutans* utilizando un láser de 660nm. y fotosensibilizante de azul de metileno al 0,005%; formando así un grupo control en el cual se usó solución salina al 0,9% y cuatro grupos experimentales, cada uno de ellos con distintos tiempos de pre irradiación de 0, 1, 3 y 5 minutos. Se demostró que, si hubo diferencias significativas entre los grupos de terapia fotodinámica evaluados en comparación con el grupo control, similar a nuestra investigación en los mismos tiempos de pre irradiación y tipo de fotosensibilizante. Además, otra similitud en los resultados es la reducción independiente de los diferentes tiempos de pre irradiación, con lo que se puede inferir es que la terapia fotodinámica reduce las UFC, sin embargo, es necesario tomar en cuenta las limitaciones de las condiciones experimentales in vitro.

Fumes et al. (2018) evaluaron in vitro la influencia de distintos tiempos de pre irradiación de la terapia fotodinámica antimicrobiana con láser diodo, utilizando cultivos de *Streptococcus mutans* y de *Candida albicans*. En los resultados obtenidos para el grupo de *Streptococcus mutans*, solo la solución salina presentó una diferencia significativa en comparación con los otros tratamientos, por lo tanto, la terapia fotodinámica independientemente del tiempo de pre irradiación fue similar al tratamiento con clorhexidina y ambos fueron más efectivos en comparación con la solución salina, lo cual es similar a nuestra investigación, pero difiere en el uso de un irrigante adicional. Mientras que para el grupo de *Candida albicans* no hubo diferencias estadísticas entre los grupos observados, lo cual se diferencia de lo reportado en la presente investigación donde el número de unidades formadoras de colonias de los grupos con aplicación de laser fue menor a lo encontrado en el grupo sin tratamiento. Otro factor a tomar en cuenta es el empleo de cepas bacterianas distintas a las utilizadas en nuestra investigación y una concentración menor del fotosensibilizante.

Prazmo et al. (2017) comprobaron la efectividad de la terapia fotodinámica en la eliminación de *Enterococcus faecalis* empleando irrigantes como el hipoclorito de sodio y

cloruro de sodio. Los resultados obtenidos muestran que el grupo de NaOCl al 5,25% presentó mayor desinfección logrando una erradicación del 100%, mientras el grupo de dos ciclos de TFD erradicó el 95% de las biopelículas, lo cual difiere a nuestra investigación en el porcentaje final de biopelículas. Esta diferencia puede deberse a factores como: las repeticiones de ciclos de terapia fotodinámica, tiempo estándar de 2 minutos de pre irradiación, azul de toluidina como fotosensibilizante y uso adicional de NaOCl al 5,25%.

VI. CONCLUSIONES

- La terapia fotodinámica redujo las UFC/ml. de *Enterococcus faecalis*, independientemente a los tiempos de pre irradiación, siendo el de 5 minutos el que obtuvo menor conteo bacteriano. Se demostró utilidad en la reducción de UFC in vitro, pero se encontró limitaciones en la estandarización de metodología.
- Los grupos que presentaron mayor y menor colonización de *UFC/ml* fueron el grupo control y el grupo de terapia fotodinámica con tiempo de pre irradiación a 5 minutos, respectivamente.
- El coeficiente de correlación de Spearman fue negativa e inversa; lo que indica que, a mayor tiempo de pre irradiación fue menor la formación de UFC/ml.
- En comparaciones múltiples entre los grupos de estudio y control observamos que los grupos; de terapia fotodinámica con tiempo de pre irradiación 5 minutos-grupo control; terapia fotodinámica con tiempo de pre irradiación 3 minutos-grupo control y terapia fotodinámica con tiempo de pre irradiación 1minuto-grupo control fueron estadísticamente significativos.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar mayores investigaciones de la aplicación de terapia fotodinámica dado que este estudio demostró resultados favorables. Además, sería recomendable evaluar su efectividad frente a otros tipos de cepas bacterianas causantes de fracasos endodónticos. Es importante considerar la replicación en estudios in vivo.
- Se recomienda realizar más estudios de investigación donde se evalúe la efectividad de la terapia fotodinámica al ser combinada con novedosas técnicas como la activación ultrasónica del irrigante, actuando como coadyuvante en el proceso de desinfección de conductos radiculares.
- Se recomienda seguir realizando investigaciones de nuevas técnicas y sistemas que puedan lograr resultados favorables y eficaces para el avance de múltiples áreas en la odontología.
- Para futuros estudios se recomienda el uso de otros métodos novedosos para determinar el número de colonias bacterianas, que podrían arrojar resultados y lecturas más exactas que la UFC/ml., como la microscopía electrónica de barrido. Debido a que el método de UFC/ml. utilizado en el presente estudio tiene restricciones y limitaciones, como el no medir el número de bacterias que quedan en los túbulos dentinarios.

VIII. REFERENCIAS

- Arias, A., Singh, R. y Peters, O. (2014). Torque and force induced by ProTaper universal and ProTaper next during shaping of large and small root canals in extracted teeth. *J Endod*, 40(7), pp. 973-976. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.11.019>
- Arneiro, R., Nakano, R., Antunes, L., Ferreira, G., Fontes, K. y Antunes, L. (2014). Efficacy of Antimicrobial photodynamic therapy for root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Journal of oral science*, 56(4), pp. 277–285. <https://doi.org/10.2334/josnurd.56.277>
- Barbosa-Ribeiro, M., De Jesus-Soares, A., Zaia, A., Ferraz, C., Almeida, J. y Gomes, B. (2016). Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Virulence Genes of *Enterococcus faecalis* Isolates from Teeth with Failure of the Endodontic Treatment. *J Endodontic*, 42(7), pp. 1022-1028. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.03.015>
- Bier, C., Shemesh, H., Tanomaru-Filho, M., Wesselink, P. y Wu, M. (2009). The ability of different nickel-titanium rotary instruments to induce dentinal damage during canal preparation. *J Endodontic*, 35, pp. 236–238. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.10.021>
- Canalda, C. y Brau, E. (2006). *Endodoncia, técnicas clínicas y bases científicas*. (2ª ed.). Elsevier.
- Carson, K., Goodell, G. y McClanahan, S. (2005). Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. *Journal of endodontics*, 31(6), pp. 471–473. <https://doi.org/10.1097/01.don.0000148868.72833.62>
- Clegg, M., Vertucci, F., Walker, C., Belanger, M. y Britto, L. (2006). The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *Journal of endodontics*, 32(5), pp. 434–437. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.07.002>
- Convissar, R. (2011). *Principles and practice of Laser Dentistry*. (1ªed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-39174-6>

- Costerton, J., Stewart, P., y Greenberg, E. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), pp. 1318-1322.
<https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>
- Dai, T., Huang, Y. y Hamblin, M. (2009). Photodynamic therapy for localized infections-state of the art. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 6(3-4), pp. 170-188.
<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2009.10.008>
- Dentsply Maillefer. (2017). *The ProTaper Next Brochure*.
<https://assets.dentsplysirona.com/dentsply/web/Endodontics/global-page-templates-assets/download-pdf%27s/protaper-next/PTN%20Brochure%20ROW%20EN.pdf>
- De Oliveira, B., Aguiar, C., y Câmara, A. (2014). Photodynamic therapy in combating the causative microorganisms from endodontic infections. *European journal of dentistry*, 8(3), pp. 424–430. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.137662>
- Duggan, J. y Sedgley, C. (2007). Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *Journal of endodontics*, 33(7), pp. 815–818.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.02.016>
- Elnaghy, A., y Elsaka, S. (2014). Assessment of the mechanical properties of ProTaper Next Nickel-titanium rotary files. *Journal of endodontics*, 40(11), pp. 1830–1834.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.06.011>
- Estrela, C., Estrela, R.C., Barbin, L., Spanó J., Marchesan, M. y Pécora, J. (2002). Mechanism of action of Sodium Hypochlorite. *Brazilian dental journal*, 13 (2), pp. 113 -117.
<https://doi.org/10.1590/s0103-64402002000200007>
- Fumes, A., Romualdo, P., Monteiro, R., Watanabe, E., Corona, S., y Borsatto, M. (2018). Influence of pre-irradiation time employed in antimicrobial photodynamic therapy with diode laser. *Lasers in medical science*, 33(1), pp. 67–73.
<https://doi.org/10.1007/s10103-017-2336-1>

- Furtado, G., Paschoal, M., Santos-Grenho, L., y Lago, A. (2020). Does pre-irradiation time influence the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy? *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 31, 101884. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101884>
- Ghorbanzadeh, A., Aminsobhani, M., Sohrabi, K., Chiniforush, N., Ghafari, S., Shamshiri, A., y Noroozi, N. (2016). Penetration Depth of Sodium Hypochlorite in Dentinal Tubules after Conventional Irrigation, Passive Ultrasonic Agitation and Nd:YAG Laser Activated Irrigation. *Journal of lasers in medical sciences*, 7(2), pp. 105–111. <https://doi.org/10.15171/jlms.2016.18>
- Gupta, R., Dhingra, A., Aggarwal, N. y Yadav, V. (2015) A new approach to single file endodontics: NeoNiTi rotary file system. *Int J Adv Case Rep*, 2(16), pp. 1030–1032. [http://mcmed.us/downloads/14392786221032\(ijacr\).pdf](http://mcmed.us/downloads/14392786221032(ijacr).pdf)
- Gulabivala, K. y Yuan-Ling, N. (2014) *Endodontics*. (4^aed.). Elsevier.
- Hamed, S., Shabayek, S. y Hassan, H. (2022). Biofilm elimination from infected root canals using four different single files. *BMC oral health*, 22(1), pp. 660. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02690-5>
- Hargreaves, K. y Cohen, S. (2011). *Cohen. vías de la pulpa*. (10^a ed.). Elsevier.
- Ingle, J. y Bakland, L. (2002). *Endodontics*. (5^a ed.). BC Decker Inc. <https://books-library.net/files/download-pdf-ebooks.org-1518010992Ux7O4.pdf>
- Kishen, A. (2012). Advanced therapeutic options for endodontic biofilms. *Endodontic Topics*, 22(1), 99-123. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2012.00284.x>
- Konopka, K. y Goslinski, T. (2007). Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Research*, 86(8), pp. 694-707. <https://doi.org/10.1177/154405910708600803>
- Lee, M., Bird, P., y Walsh, L. (2004). Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for lasers in endodontics. *Australian endodontic journal: the journal of the Australian*

- Society of Endodontology Inc*, 30(3), pp. 93–98. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2004.tb00417.x>
- Moan, J. y Berg, K. (1991). The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochemistry and photobiology*, 53(4), 549–553. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1991.tb03669.x>
- Nunez, S., Ribeiro, M. y Garcez, A. (2019). *PDT-Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana na Odontologia*. (2ª ed.). Elsevier. <http://repositorio.ipen.br/handle/123456789/30899>
- Orstavik, D. y Haapasalo, M. (1990). Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*, 6(4), pp. 142-149. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.1990.tb00409.x>
- Patel, B. (2016) *Endodontic Treatment, Retreatment, and Surgery: Mastering Clinical Practice*. (1ª ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-19476-9>
- Pécora, J., Guerisoli D., Da Silva R. y Vansan L. (1997). Shelf-Life of 5% Sodium Hypochlorite Solutions. *Journal of Braz Endod*, 2(1) pp. 43-45.
- Prażmo, E., Godlewska, R., y Mielczarek, A. (2017). Effectiveness of repeated photodynamic therapy in the elimination of intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm: an in vitro study. *Lasers in medical science*, 32(3), pp. 655–661. <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2164-3>
- Sahar-Helft, S., Stabholtz, A., Moshonov, J., Gutkin, V., Redenski, I., y Steinberg, D. (2013). Effect of Er:YAG laser-activated irrigation solution on *Enterococcus Faecalis* biofilm in an ex-vivo root canal model. *Photomedicine and laser surgery*, 31(7), 334–341. <https://doi.org/10.1089/pho.2012.3445>
- Schiffner, U., Cachovan, G., Bastian, J., Sculean, A. y Eick, S. (2014). In vitro activity of photoactivated disinfection using a diode laser in infected root canals. *Acta*

odontologica Scandinavica, 72(8), pp. 673–680.

<https://doi.org/10.3109/00016357.2014.898087>

Shaheen, N., Farag, A., Alhadainy, H. y Darrag, A. (2013). Fracture resistance of endodontically treated roots using different preparation-obturation combinations. *Tanta Dent J.*, 10, pp. 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.tdj.2013.08.008>

Shahriari, S., Abedi, H., Hashemi, M. y Jalalzadeh, S. (2009). Comparison of removed dentin thickness with hand and rotary instruments. *Iran Endod J.*, 4(2), pp. 69–73.

Siddiqui, S. H., Awan, K. H., & Javed, F. (2013). Bactericidal efficacy of photodynamic therapy against *Enterococcus faecalis* in infected root canals: a systematic literature review. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 10(4), pp. 632–643. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2013.07.006>

Silva, E., Coutinho-Filho, W., Andrade, A., Herrera, D., Hirata-Junior, R., Coutinho-Filho, T. y Krebs, R. (2011). Efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica sobre *Enterococcus faecalis*, estudio in vitro. *Rev Estomatológica Herediana*, 21(4), pp. 185-189. <https://doi.org/10.20453/reh.v21i4.164>

Siqueira, J. (2001). An etiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Endod Journal*, 34(1), pp. 1-10. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2001.00396.x>

Siqueira, J., Rôças, I., Favieri, A. y Lima K. (2000). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*, 26(6), pp. 331–334. <https://doi.org/10.1097/00004770-200006000-00006>

Soukos, N. y Goodson, J. (2011). Photodynamic therapy in the control of oral Biofilms. *Periodontology* 2000, 55(1), pp. 143-166. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2010.00346.x>

- Spanó, J., Barbin, E., Santos, T., Guimarães, L. y Pécora, J. (2001). Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. *Brazilian dental journal*, 12(3), pp. 154–157.
- Stuart, C., Schwartz, S., Beeson, T. y Owatz, C. (2006). Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of Endodontics*, 32(2), pp. 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.10.049>
- Tenore, G., Palaia, G., Migliau, G., Mohsen, A., Rocchetti, F., Gaimari, G., Impellizzeri, A., Salapata, Y., Berlutti, F., Polimeni, A. y Romeo, U. (2020). Evaluación de la terapia fotodinámica utilizando un láser de diodo de 635 nm como complemento de los procedimientos de endodoncia quimio-mecánicos convencionales contra Enterococcus faecalis Biofilm: Estudio Ex-Vivo. *Ciencias aplicadas*, 10 (8). <http://dx.doi.org/10.3390/app10082925>
- Torabinejad, M. y Walton, R. (2010). *Endodoncia principios y práctica*. (5ª ed.). Elsevier.
- Torres, F., Mallma, A., Munayco, A., Sotomayor, O., Mauricio, F. y Mayta-Tovalino, F. (2022). Antibacterial Effect of Red Laser Therapy on *Enterococcus faecalis* Using Different Photosensitizers: An In Vitro Study. *International journal of dentistry*, 2022, 7408554. <https://doi.org/10.1155/2022/7408554>
- Ye, J. y Gao, Y. (2012). Metallurgical characterization of M-Wire nickel-titanium shape memory alloy used for endodontic rotary instruments during low-cycle fatigue. *J Endod*, 38(1), 105-107. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.09.028>
- Zandbiglari, T., Davids, H. y Schäfer, E. (2006). Influence of instrument taper on the resistance to fracture of endodontically treated roots. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101(1), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.01.019>

IX. ANEXOS

Anexo A: Carta de presentación dirigida a la Clínica de Endodoncia UNFV



Universidad Nacional
Federico Villarreal

**FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA**

“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

OFICINA DE GRADOS Y GESTIÓN DEL EGRESADO

Pueblo Libre, 17 de setiembre de 2022

**Dr.
PAUL ORESTES MENDOZA MURILLO
DIRECTOR – DEPARTAMENTO ACADÉMICO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**ATENCIÓN: Esp. LUIS ALBERTO CAFFO GELDRES
LABORATORIO ENDODONCIA**

Presente .-

De mi especial consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, con la finalidad de presentarle a la Bachiller en Odontología Srta. Margarita Sante Medina, quien se encuentra realizando el Plan de Tesis titulado:

**«EFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA APLICANDO
DIFERENTES TIEMPOS DE PRE IRRADIACIÓN EN CONDUCTOS RADICULARES
CONTAMINADOS CON ENTEROCOCCUS FAECALIS; ESTUDIO IN VITRO»**

En tal virtud, mucho agradeceré le brinde las facilidades del caso a la Srta. Sante quien realizará el siguiente trabajo:

- ✓ *Preparación mecanizada de las muestras del trabajo de investigación con limas rotatorias ProTaper Next (Maillefer)*

Ésta información le permitirá desarrollar su trabajo de investigación.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para renovarle los sentimientos de mi especial consideración.

Atentamente



**Dr. AMÉRICO A. MUNAYCO MAGALLANES
JEFE
OFICINA DE GRADOS Y GESTIÓN DEL EGRESADO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

Se adjunta: Plan de Tesis
Folios (41)

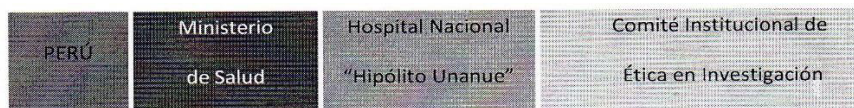
042-2022
NT: 053637 - 2022

AAMM/Luz V.

Calle San Marcos N°351 – Pueblo Libre
e-mail: ogt.fo@unfv.edu.pe

Telef.: 7480888 -8335

Anexo B: Carta de aprobación del Hospital Nacional Hipólito Unanue



"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

CARTA N° 029 - 2023 - CIEI- HHU

A : MARGARITA SANTE MEDINA
ASUNTO : **Aprobación de Proyecto de tesis**
Referencia : Expediente N° 22 - 051349 – 001
FECHA : El Agustino, 15 de marzo del 2023

Es grato dirigirme a usted, para saludarles y dar respuesta al documento de referencia donde solicita revisión y aprobación del Proyecto de tesis titulado: **"Efectividad antimicrobiana de la terapia fotodinámica aplicando diferentes tiempos de pre irradiación en conductos radiculares contaminados con enterococcus faecalis; estudio in vitro"**, para optar el título profesional de Cirujano Dentista – UNFV.

El Comité, en sesión virtual de fecha miércoles 01 de marzo del presente año, y según consta en el Libro de actas N° 8, Acordó por unanimidad: Aprobar el Proyecto de tesis antes mencionado.

Atentamente,

MINISTERIO DE SALUD
HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE
DRA. ANGELICA RICA YURIVILCA
CIP 106482
Presidenta del Comité de Ética en Investigación

ARY
Archivo.

Anexo C: Ficha de recolección de datos

MUESTRA	UFC (10μl)	UFC/ml
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

Anexo D: Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

(Según Artículo 33 del Reglamento de Ensayos Clínicos. Instituto Nacional de Salud - Lima)

Título: “Efectividad antimicrobiana de la terapia fotodinámica aplicando diferentes tiempos de pre irradiación en conductos radiculares contaminados con *Enterococcus faecalis*; estudio in vitro”

Fecha:

Yo..... identificado (a) con DNI:
 en pleno uso de mis facultades, a través del presente documento doy el consentimiento para donar mis piezas dentarias premolares inferiores que serán extraídas con fines ajenos al estudio. Entendida la finalidad, estoy debidamente informado (a) que la donación será usada para una investigación, por ello doy libremente este consentimiento a la Bachiller en Odontología Margarita Sante Medina, quien va realizar su trabajo de tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villareal.

 Firma paciente o Representante
 Legal (si es menor edad)

 Firma del Odontólogo
 (Recepción donación)

Anexo E: Lista de imágenes



Imagen 1: Recolección de premolares inferiores permanentes.

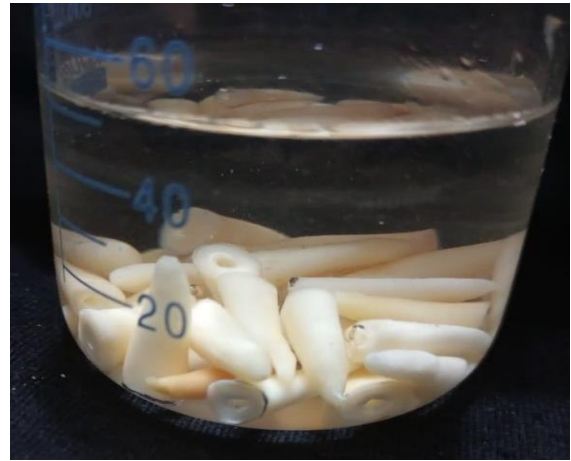


Imagen 2: Almacenamiento de la muestra en suero fisiológico.



Imagen 3: Muestra preparada para vista radiográfica vestibular.



Imagen 4: Muestra preparada para vista radiográfica vestibulo-lingual.

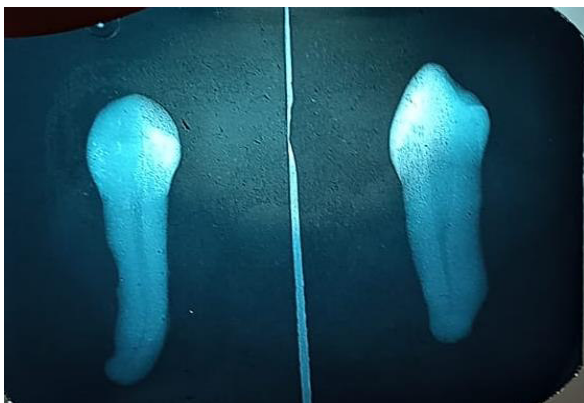


Imagen 5: Radiografía para comprobar la presencia de un solo conducto.



Imagen 6: Longitud de trabajo delimitada.

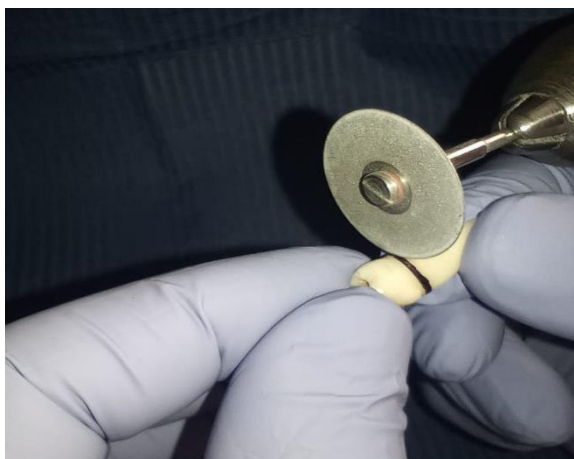


Imagen 7: Corte con disco a una longitud de 15mm.



Imagen 8: Permeabilización del conducto con lima n°10.



Imagen 9: Motor endodóntico rotatorio Dentsply X-Smart.



Imagen 10: Limas rotatorias Protaper Next (X1, X2 y X3).



Imagen 11: Preparación del conducto radicular con lima rotatoria X1.



Imagen 12: Preparación del conducto radicular con lima rotatoria X2.

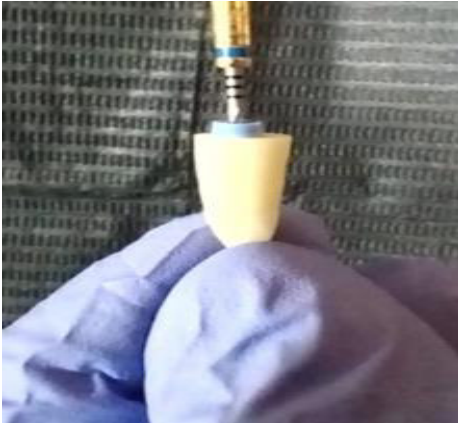


Imagen 13: Preparación del conducto radicular con lima rotatoria



Imagen 14: Irrigación con NaOCl al 2.5%, EDTA y NaCl al 0.9%



Imagen 15: Secado del conducto radicular con cono de papel.



Imagen 16: Fijación en el tubo criovial con silicona pesada.



Imagen 17: Colocación de las muestras en una caja autoclavable para su posterior esterilización



Imagen 18: Cultivo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en agar sangre.

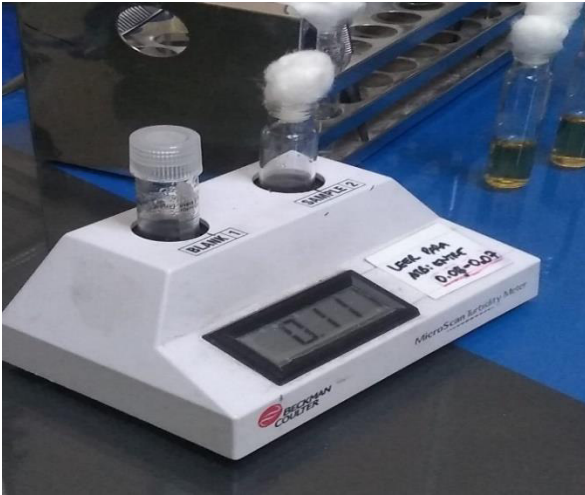


Imagen 19: Suspensión de *Enterococcus faecalis* en caldo BHI y solución salina en el turbidómetro.

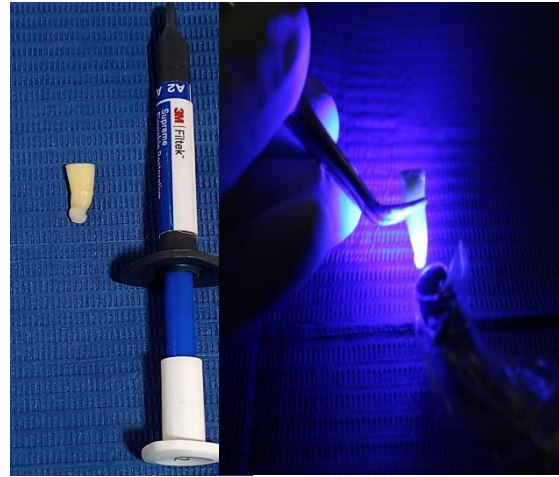


Imagen 20: Aplicación de resina en el ápice y fotocurado



Imagen 21: Inoculación de la suspensión bacteriana en las muestras cada 48 hrs pr 21 días.

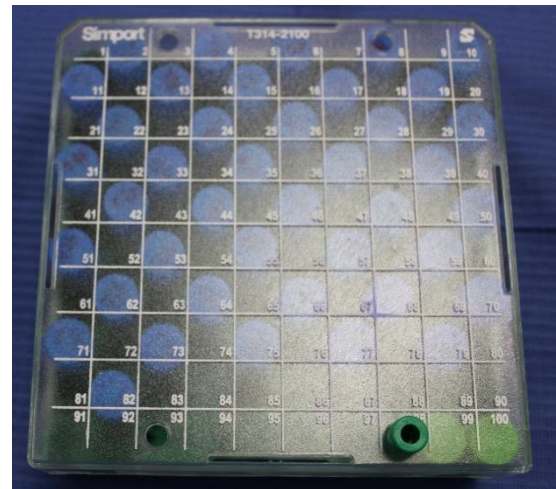


Imagen 22: Almacenamiento de las muestras en incubadora a 37°.



Imagen 23: mesa de trabajo para la aplicación de terapia fotodinámica.



Imagen 24: Láser Therapy XT y lentes protectores contra la luz láser.



Imagen 25: Azul de metileno al 0.005% y fibra de 200 µm de diámetro.



Imagen 26: eliminación de BHI con 2ml. de NaCl al 0.9%.



Imagen 27: Aplicación del azul de metileno en el conducto radicular según el tiempo de pre irradiación.

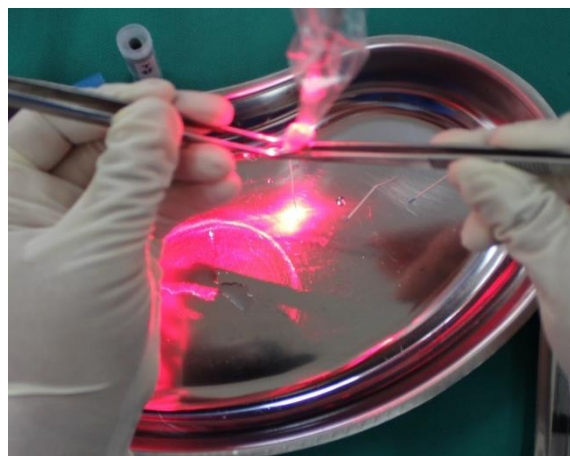


Imagen 28: Irradiación del láser con movimientos helicoidales por 90 seg.



Imagen 29: láser Therapy XT con longitud de onda de 660nm y 9J de energía.

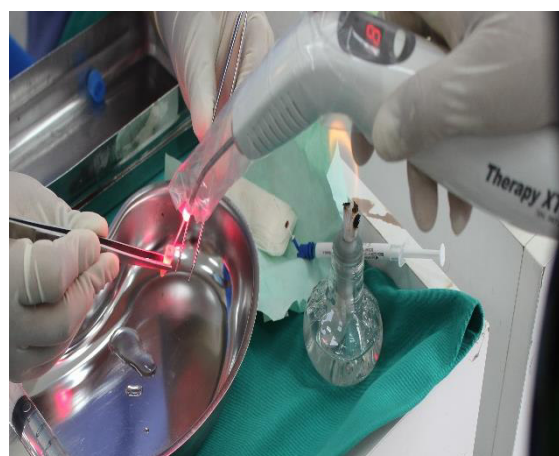


Imagen 31: Secuencia de aplicación de láser en cada conducto radicular.



Imagen 31: Eliminación del sobrante de azul de metileno al 0.005%.



Imagen 32: Toma de la muestra con cono de papel estéril.



Imagen 33: Colocación y almacenamiento de la muestra en tubos crioviales.



Imagen 34: Almacenamiento en cooler con packs de hielo para transporte al servicio de microbiología

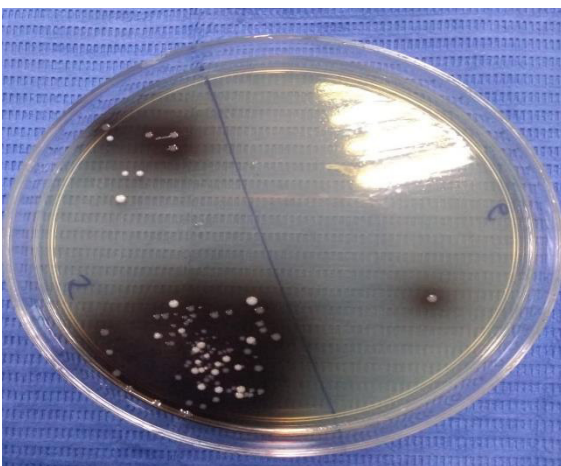


Imagen 35: UFC en el grupo control.

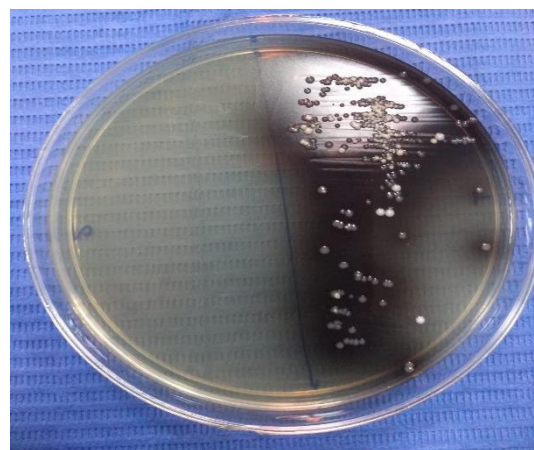


Imagen 36: UFC en el grupo control

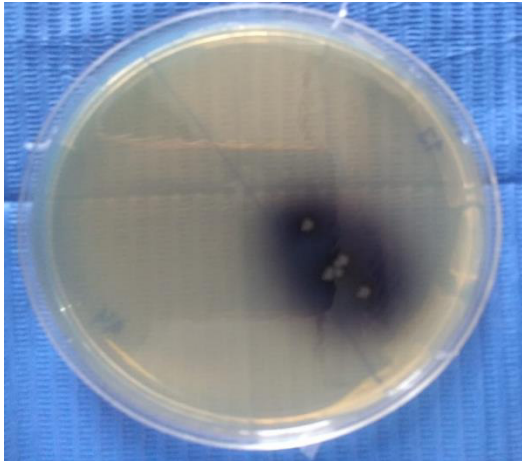


Imagen 37: UFC en el grupo TFD con 1min. de pre irradiación

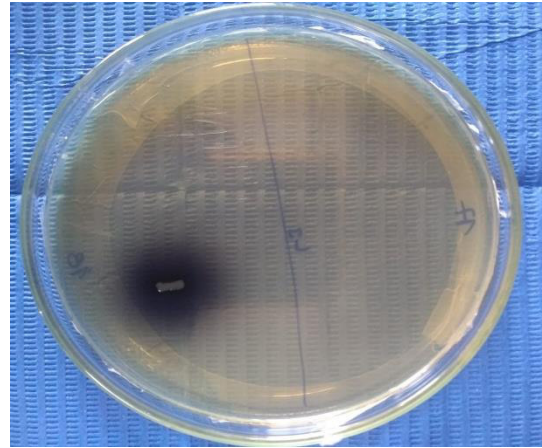


Imagen 38: UFC en el grupo TFD con 1min. de pre irradiación

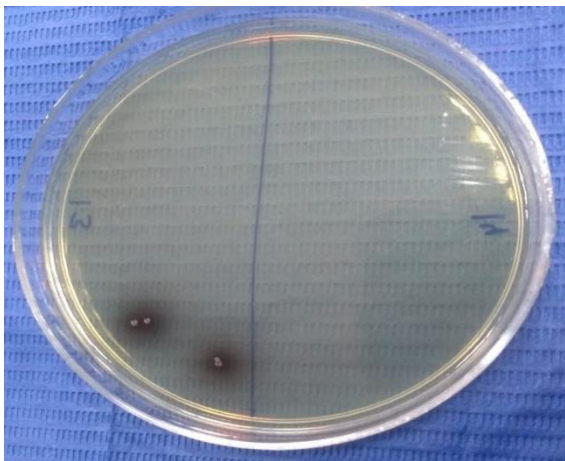


Imagen 39: UFC en el grupo TFD con 3min. de pre irradiación.

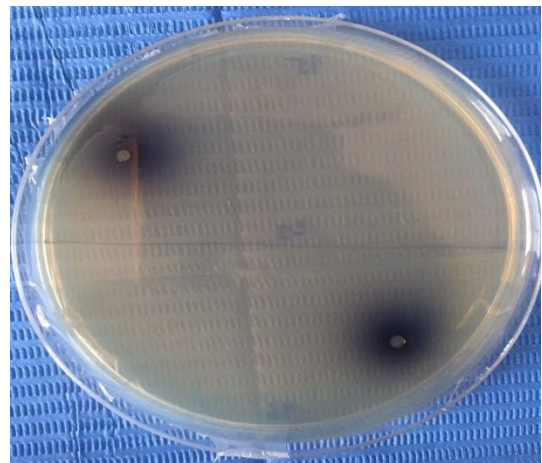


Imagen 40: UFC en el grupo TFD con 3min. de pre irradiación.

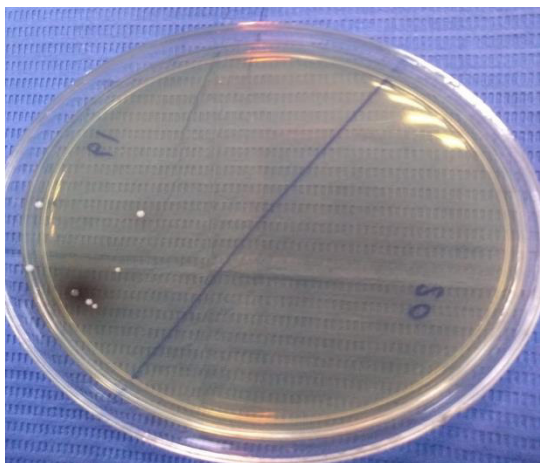


Imagen 41: UFC en el grupo TFD con 5min. de pre irradiación.

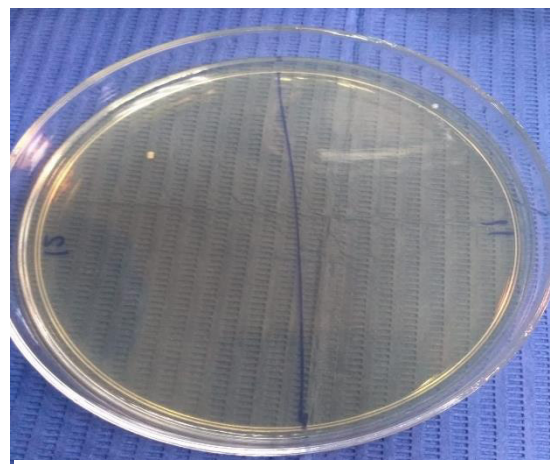


Imagen 42: UFC en el grupo TFD con 5min. de pre irradiación.

ANEXO F: Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADOR	MÉTODO
¿Cuál será la efectividad antimicrobiana de la terapia fotodinámica aplicando diferentes tiempos de pre irradiación en conductos radiculares de premolares inferiores contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> ?	<p>Objetivo general: Determinar la efectividad antimicrobiana de la terapia fotodinámica aplicando diferentes tiempos de pre irradiación en conductos radiculares contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>Objetivos específicos: Describir el promedio y desviación estándar de UFC/ml. en los grupos de estudio y control. Evaluar la correlación de UFC/ml. entre los grupos de estudio y control. Determinar comparaciones múltiples entre los grupos de estudio y control, según los periodos de tiempo de pre irradiación.</p>	La terapia fotodinámica antimicrobiana es efectiva independientemente de los tiempos empleados de pre irradiación 1, 3 y 5 minutos en conductos radiculares contaminados con <i>Enterococcus faecalis</i> según el número de UFC/ml.	<p>Variable Independiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Terapia fotodinámica con un tiempo de pre irradiación de 1 minuto. -Terapia fotodinámica con un tiempo de pre irradiación de 3 minutos. -Terapia fotodinámica con un tiempo de pre irradiación de 5 minutos. <p>Variable Dependiente: Efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica en la desinfección de conductos radiculares.</p>	Unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml)	<p>Tipo de investigación: Experimental in vitro, comparativo, prospectivo y transversal</p> <p>Muestra: 10 piezas dentarias premolares por grupo de estudio</p> <p>Método: Observación directa.</p> <p>Instrumento: Ficha de recolección de datos</p>