BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

División de Estudios de Posgrado

Maestría en estomatología con terminal en endodoncia

ACTIVACIÓN DEL HIPOCLORITO DE SODIO CON LÁSER DIODO *VS* ACTIVACIÓN ULTRASÓNICA EN LA DISMINUCIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE *E. FAECALIS*. ESTUDIO *IN VITRO*.

Tesis para obtener el grado de:

Maestra en Estomatología con Opción Terminal en Endodoncia

Presenta:

C.D Odette Yamak Bechara Hage

MAT: 221450000

Responsable del proyecto:

DC. Brenda Eréndida Castillo Silva

NSS526469

Director Disciplinario:

ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero

ID: 100526940

Director Metodológico:

DC. Alberto Vinicio Jerezano Domínguez

NSS524063

Lector:

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez.

ID: 100408155

Asesor externo:

Gabriel Martínez Castañón

Puebla, Puebla. Junio 2023

I. Dictamen de aprobación de tesis

BUAP

Oficio No. FESIEP/CIFE/069/2023

C. Odette Yamak Bechara Hage
Alumna de la Maestría en Estomatología
con opción en Terminal en Endodoncia
Matrícula No.: 221450000
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, el que suscribe MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; por este medio me permito informar a Usted, que, está Secretaría de Posgrado aprueba la impresión de la Tesis titulada:

"Activación del hipoclorito de sodio con láser diodo vs activación ultrasónica en la disminución de unidades formadoras de colonias de E. faecalis. Estudio in vitro".

misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener el grado de Maestra en Estomatología con opción en Terminal en Endodoncia; para su conocimiento y atención correspondiente.

Sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

A t e n t a m e n t e
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., 09 de junio de 2023

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA · FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA · INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO · 1578

***Se anexa:** Formato de Impresión de Tesis (Original) – p.s.c y a.*
**C.c.p. Archivo*
**MTRO. FJMA/DR.FADV/yaneth*

Facultad de Estomatología | 31 Poniente 1304, Col. Volcanes, Puebla, Pue. C. P. 72410
01 (222) 229 55 00 Ext. 6400

II. Autorización de impresión

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL

Para obtener el Grado de: ***Maestro(a) en Estomatología con opción terminal en endodoncia***

Registro CIFE: *2023206.* ***Fecha:*** *jueves 08 de junio del 2023.*

Título de la Tesis*: "Activación del hipoclorito de sodio con láser diodo vs activación ultrasónica en la disminución de unidades formadoras de colonias de E.faecalis. Estudio in vitro".*

Nombre del alumno*: Odette Yamak Bechara Hage.* ***Matrícula:*** *221450000.*

Domicilio*: 4ta cerrada de jarcierías #5 Fraccionamiento Puerta de Hierro CP: 72130 Puebla, Puebla.*

Tel*: 22*11 53 59 79.* ***Fecha de ingreso a la Facultad:*** *lunes 06 de enero. del 2020.*

Firma: _____

Director de Tesis*: DC. Brenda Eréndida Castillo Silva.* ***Grado académico:*** *Doctor en Ciencias Odontológicas.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID****: NSS526469.* ***Tel****: 44*42 42 60 77.*

Firma: _____

Director Disciplinario: *ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero.* ***Grado académico:*** *Maestro en endodoncia.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID:*** *100526940.* ***Tel:*** *22*23 58 63 44.*

Firma: _____

Director Metodológico: *DC. Alberto Vinicio Jerezano Domínguez.* ***Grado académico:*** *Doctor en Ciencias.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID:****NSS524063.* ***Tel:*** *22*24 26 95 08.*

Firma: _____

Lector: *MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez.* ***Grado académico:*** *Maestría en Ortodoncia.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID:*** *100408155* ***Tel:*** *22*21 61 47 78.*

Firma: _____

Nombre y firma de aprobación responsable de la Maestría en Estomatología con Opción terminal en Endodoncia.

ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero ***Firma:*** _____

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez

Fecha: *jueves 08 de junio del 2023.* ***Sello***

III. Agradecimientos

A mis asesores muchas gracias por toda su paciencia, dedicación y orientación cuando más confundida estaba, gracias por motivarme y apoyarme a lo largo de este proceso.

A mis maestros, pues sin ustedes esto no sería posible, les debo mi formación y conocimientos. A donde vaya los llevaré siempre en mi corazón. Gracias por su paciencia y sus consejos.

A mis compañeras, Alma, Diana y Tanya gracias por ser mis hermanas en este viaje, sin duda conocerlas cambio mi vida, por siempre atesoraré los momentos que hemos vivido jutas, gracias por todo su apoyo en los días difíciles y por siempre estar ahí.

A mis padres gracias por su apoyo a lo largo de mi vida, pero en especial gracias por enseñarme que la vida se trata de ir siempre tras nuevas metas y nunca rendirse. Este logro se los dedico a ustedes porque es tan suyo como mío.

A mi hermana por hacerme reír cuando todo lo que quiero es llorar, gracias por toda tu ayuda.

IV. TABLA DE CONTENIDO

I. DICTAMEN DE APROBACIÓN DE TESIS III

II. AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN IV

III. AGRADECIMIENTOS V

IV. TABLA DE CONTENIDO VI

V. ÍNDICE DE TABLAS VIII

VI. ÍNDICE DE GRÁFICAS IX

VII. ÍNDICE DE IMÁGENES IX

VIII. ABREVIATURAS IX

RESUMEN 1

INTRODUCCIÓN 2

1. ANTECEDENTES 3

1.1 ANTECEDENTES GENERALES 3

1.1.1. EL SISTEMA DE CONDUCTOS RADICULARES 3

1.1.2. NECROSIS PULPAR Y PERIODONTITIS PERIAPICAL 4

1.1.3. ENTEROCOCCUS FAECALIS 6

1.1.4. BIOPELÍCULAS 7

1.1.5. IRRIGACIÓN 8

1.1.6. LÁSER 10

1.1.7. TIPOS DE LÁSER 10

1.1.8. LÁSER DIODO 11

1.1.9. IRRIGACIÓN ACTIVADA POR LÁSER 11

1.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS 13

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 16

3. JUSTIFICACIÓN 18

4. HIPÓTESIS 20

5. OBJETIVO 20

5.1. OBJETIVO GENERAL 20

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 20

6. MATERIAL Y MÉTODOS 22

6.1. DISEÑO DEL ESTUDIO 22

6.2. POBLACIÓN Y MUESTRA 22

6.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN 22

6.3.1. INCLUSIÓN 22

6.3.2. EXCLUSIÓN 22

6.3.3. ELIMINACIÓN 23

6.4. VARIABLES 23

6.5. CONCORDANCIA Y FIABILIDAD 24

6.6. UBICACIÓN ESPACIO TEMPORAL 25

6.7. PROCEDIMIENTOS, TÉCNICAS Y FUENTES DE RECOLECCIÓN 25

6.7.1. PREPARACIÓN DE LOS CONDUCTOS ARTIFICIALES 25

6.7.2. CULTIVO DE E. FAECALIS 25

6.7.3. GRUPOS EXPERIMENTALES 26

6.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS 29

7. RESULTADOS 30

8. DISCUSIÓN 33

9. CONCLUSIÓN 36

10. BIBLIOGRAFÍA 37

11. ANEXOS 44

11.1. ANEXO 1: KAPPA DE COHEN 44

V. Índice de tablas

Tabla 1: Variables dependientes. 23

Tabla 2: Variables independientes..... 24

Tabla 3: Porcentaje de crecimiento bacteriano posterior a la desinfección. 30

Tabla 4: Tabulación Kappa de Cohen 44

Tabla 5: Resultado Kappa de Cohen..... 44

VI. Índice de gráficas

Gráfica 1: Turbidez a las 24 horas. 31

VII. Índice de imágenes

Imagen 1: Preparación de los modelos de acrílico. 25

Imagen 2: Inoculación de los conductos con E. *faecalis*. 26

Imagen 3: Activación del NaOCl con láser y toma de la muestra..... 27

Imagen 4: Imagen 3: Activación del NaOCl con US y toma de la muestra. 28

Imagen 5:Irrigación con NaOCl al 5.25 % y sembrado con micropipeta. 29

Imagen 6: Siembra en placa. (a) Activación con láser sin crecimiento a las 24 h (b) Activación con ultrasonido sin crecimiento a las 24 h (c) Irrigación con NaOCl sin crecimiento a las 24 h 31

Imagen 7: Siembra en placa. (d) Activación con láser con crecimiento a las 24 h (e) Activación con ultrasonido con crecimiento a las 24 h (f) Irrigación con NaOCl con crecimiento a las 24 h (g) Grupos control. 32

VIII. Abreviaturas

SCR: Sistema de conductos radiculares.

TCR: Tratamiento de conductos radiculares.

NaOCl: Hipoclorito de sodio.

US: Ultrasonido.

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

UFC: Unidades formadoras de colonias.

BHI: Infusión cerebro corazón.

Resumen

La irrigación es la parte más importante del tratamiento de conductos, ya que esta parte del tratamiento permite desinfectar las complejidades anatómicas del sistema de conductos radiculares (SCR) para eliminar las bacterias y el tejido necrótico. Se utiliza hipoclorito de sodio para lograr una desinfección profunda, la acción del hipoclorito de sodio está determinada por la concentración, volumen y tiempo. El tiempo necesario para que tenga una acción disolvente y desinfectante es de 30 minutos. Se elaboraron protocolos de activación para reducir el tiempo de trabajo sin aumentar su concentración, el protocolo más popular es la activación con ultrasonido, que reduce el tiempo de desinfección a 1 minuto. Sin embargo, diversos estudios no demuestran que este protocolo sea superior a la irrigación simple con aguja.

Con el objetivo de mejorar la desinfección del conducto radicular, se han propuesto nuevos irrigantes y nuevos protocolos de activación, muchos de ellos sin éxito, mientras que otros protocolos son demasiado costosos para llevar a cabo en el día a día. La activación del hipoclorito con láser ha demostrado generar cavitación y corrientes acústicas más violentas que pueden penetrar a una mayor profundidad dentro de los túbulos dentinarios.

En esta investigación se propuso un protocolo para activar el hipoclorito con láser que fue probado *in vitro* en 60 modelos de acrílico del conducto radicular infectados con *E. faecalis* divididos en: Grupo A: activación del hipoclorito de sodio con láser, Grupo B: activación del hipoclorito con ultrasonido, Grupo C: hipoclorito de sodio sin activar, Grupo D: control. El grupo A probó tener un menor crecimiento bacteriano después del tratamiento, con un 13 % de crecimiento. Se comprobó que el mejor protocolo para activar el hipoclorito de sodio es por medio del láser diodo de 940 nm de longitud de onda.

Palabras clave: Protocolo de irrigación, láser diodo, ultrasonido, hipoclorito de sodio, *E. faecalis*.

Introducción

Los conductos se tratan con el objetivo de evitar la periodontitis apical, para lograrlo es necesario ensanchar, conformar y limpiar los conductos radiculares para posteriormente obturarlos de manera tridimensional para impedir el reingreso de bacterias al SCR. El éxito del tratamiento de conductos radiculares depende de la cantidad de microorganismos presentes en el momento de la obturación.

La instrumentación es un paso clave en el tratamiento de conductos, a pesar de no tener la capacidad de eliminar por completo las biopelículas que se forman en las paredes del conducto, este paso es de suma importancia, puesto que al conformar el conducto permite la penetración del irrigante en el sistema de conductos, la irrigación con soluciones desinfectantes será responsable de disminuir la carga bacteriana.

El irrigante por excelencia en endodoncia es el hipoclorito de sodio por su capacidad para disolver el tejido orgánico y matar microorganismos, debido a su elevada tensión superficial solo penetra 130 µm en los túbulos dentinarios mientras que las bacterias se alojan hasta a 1,100 µm, por esta razón es importante activar el irrigante dentro del conducto que por el aumento de temperatura y la agitación será capaz de eliminar una mayor cantidad de tejido orgánico al lograr un efecto acumulativo que asegura una desinfección mejorada del sistema de conductos.

Existen diversos protocolos de activación del hipoclorito de sodio, entre los cuales se encuentran la activación ultrasónica, que permite generar corrientes acústicas y cavitación, que es la formación de burbujas microscópicas que, al explotar, generan presión sobre las paredes para eliminar el biofilm de las complejidades anatómicas.

La activación del hipoclorito de sodio con láser ha demostrado agitar el irrigante con extrema turbulencia, esta característica es especialmente deseable por las complejidades del sistema de conductos imposibles de instrumentar y por los microorganismos altamente resistentes a los medicamentos.

1. Antecedentes

1.1 Antecedentes generales

1.1.1. *El sistema de conductos radiculares*

El complejo pulpodentinario es un tejido conectivo especializado capaz de responder a los estímulos biológicos, mecánicos, térmicos y químicos que generan inflamación pulpar, hasta la más mínima agresión a la pulpa puede desencadenar una dentinogénesis protectora (1).

Al realizar un tratamiento de conductos radiculares (TCR) una de las consideraciones más importantes es la anatomía del sistema de conductos radiculares (SCR), al consultar la literatura existe un amplio rango de variaciones en la morfología del SCR, por ejemplo la incidencia de dos conductos en el tercio apical de un segundo premolar superior va de un 4 % a un 50 % (2). El tratamiento endodóntico tiene como objetivo ensanchar, conformar y limpiar los conductos radiculares para poder obturarlos con un material aceptable (3).

Dentro de las variaciones anatómicas más frecuentes encontramos los conductos accesorios, laterales o en la furca, existen conexiones entre los conductos en formas de aletas o istmos, pueden encontrarse conductos en C o deltas apicales, además podemos encontrar curvaturas severas o conductos en forma de S que dificulten la correcta instrumentación del conducto en este sentido se vuelve vital la irrigación para lograr desinfectar estas zonas difíciles de alcanzar (4).

El objetivo más importante en este proceso es la preparación quimio mecánica del conducto, pues de esto depende eliminar las bacterias que causan la enfermedad pulpar y periapical, una desinfección incompleta da como resultado un fracaso del tratamiento por dejar bacterias dentro del SCR (5) existen diversos estudios que comparan escaneos microtomográficos o estudios histológicos antes y después de la instrumentación de los conductos, donde se confirma que el desbridamiento del conducto radicular es un gran desafío, por factores como la anatomía del sistema de conductos y las limitaciones de los instrumentos para entrar en contacto con todas las paredes del conducto esto evita la remoción del tejido pulpar infectado (5–8).

La pulpa y la dentina actúan en conjunto como un complejo funcional con el principal objetivo de formar dentina y dar sensibilidad al órgano dentario, el complejo pulpo dentinario está bajo la protección del esmalte y del cemento que sirven como una barrera física entre las sustancias exógenas que se encuentran en la cavidad oral, la alteración de estos tejidos protectores facilita la invasión bacteriana de los túbulos dentinarios (9).

1.1.2. *Necrosis pulpar y periodontitis periapical*

La caries dental es una enfermedad inducida por biopelículas bacterianas y su supervivencia depende de una dieta rica en carbohidratos fermentables (10). Las bacterias son reconocidas como el principal factor etiológico de las lesiones pulpares y periapicales (11). En 1965, Kakehashi y cols. realizaron un estudio con el propósito de establecer la relación entre la presencia de bacterias en la pulpa dental y la ausencia de curación. Para su estudio compararon la respuesta pulpar después de su exposición al medio bucal de ratas libres de gérmenes y ratas normales, los resultados revelaron que la curación no era posible en un medio expuesto a microorganismos, pues las ratas normales desarrollaron necrosis pulpar, granulomas o abscesos (12).

La periodontitis apical es una enfermedad inducida por las biopelículas que se forman en las paredes del sistema de conductos y que dan origen a la infección endodóntica (12,13). Las biopelículas colonizan por completo el SCR, esto incluye las ramificaciones apicales, los conductos laterales y los istmos que conectan los conductos radiculares principales (3,13).

La dentina es un tejido muy poroso por su estructura tubular y una vez que se establece un proceso infeccioso los túbulos dentinarios son una vía de difusión que permite a las bacterias entrar en contacto con directo con la pulpa y los tejidos perirradiculares (9) la infección endodóntica puede clasificarse como primaria o secundaria (14) entre las diferencias que podemos encontrar entre la infección primaria y secundaria es importante mencionar la diversidad de especies encontradas, en la infección primaria se han encontrado entre 3 y 10 especies

diferentes por conducto mientras que en la infección secundaria lo más frecuente es encontrar de una a tres especies por conducto (15).

En la infección endodóntica primaria, donde no existe una comunicación extensa entre el tejido pulpar y la cavidad oral, la proporción de microorganismos anaerobios estrictos puede variar entre el 70 % y el 100 % mientras que en los casos de exposición pulpar a una lesión cariosa la proporción de bacterias Gram positivas microaerófilas y facultativas es considerablemente mayor, las bacterias anaerobias aisladas con mayor frecuencia en este tipo de infección son: *Dialister pneumosintes, T. forsythensis, Prevotella spp., Porphyromonas spp., Fusobacterium spp., Treponema spp., Campylobacter rectus, Micromonas micros, Eubacterium spp., Bifidobacterium spp., Actinomyces spp., Propionibacterium spp., Lactobacillus spp. y Streptococcus spp.* (14).

La infección endodóntica secundaria o persistente se presenta en los dientes que durante el tratamiento de conductos o posterior a este se infectaron con nuevos microorganismos, en estos casos el pronóstico suele ser peor no solo por la dificultad técnica del retratamiento sino porque los microorganismos en el SCR han resistido a condiciones adversas como la falta de sustrato o la exposición a agentes capaces de destruirlos (14).

Algunos autores han intentado relacionar el pronóstico del tratamiento con la cantidad de microorganismos presentes al momento de la obturación. El porcentaje de éxito se reduce entre el 10-15 % en los dientes que arrojaron cultivos positivos antes de la obturación (16). Estos estudios se veían limitados por los métodos de cultivo utilizados, pues no eran efectivos para recuperar bacterias anaerobias. Sjögren y cols. en 2003 realizaron un estudio con cultivos anaeróbicos para comprobar la presencia o ausencia de microorganismos al momento de obturar y se hizo un seguimiento a 5 años. Los resultados de este estudio dan un porcentaje de éxito del 68 % a los dientes que tuvieron cultivos positivos al momento de la obturación, los dientes con cultivos negativos al momento del obturar tuvieron un porcentaje de éxito del 94 % (17).

Se puede recurrir al estándar de turbidez de McFarland entre los procedimientos microbiológicos para el recuento de UFC, que es un método de comparación visual entre una suspensión bacteriana y un estándar creado con soluciones de cloruro de bario al 1 % y ácido sulfúrico al 1 % La principal ventaja del estándar de McFarland es permitir estimar el número de bacterias en una solución sin necesidad de un equipo especial o de incubar la muestra. La cantidad total de bacterias se estima en función de los niveles de UFC presentes por cada mililitro, al ajustar la escala al 0.5 o a 1. El estándar no permite cuantificar el número de bacterias muertas, por lo que se recomienda sembrar en placa para verificar el crecimiento bacteriano (18).

1.1.3. *Enterococcus faecalis*

El *E. faecalis* es responsable del 80 % al 90 % de las infecciones humanas provocadas por enterococos, también es el microorganismo que se recupera con mayor frecuencia de los órganos dentarios previamente obturados (19). El *Enterococcus faecalis* es un coco gram positivo de metabolismo fermentativo, facultativamente anaerobio, que no forma endosporas, es capaz de sobrevivir dentro de los túbulos dentinarios y adherirse al colágeno en presencia de suero humano, el *E. faecalis* privado de sustrato es capaz de formar biopelículas en un ambiente hostil y sobrevivir al hipoclorito de sodio al 5.25 % (20).

Sundqvist en 1998, demuestra por medio de su estudio que el *E. faecalis* no suele ser parte de la microflora de una infección primaria, sin embargo, es capaz de ingresar al SCR durante el tratamiento de conductos, sobrevivir a los irrigantes, la medicación intraconducto y permanecer en el conducto una vez obturado (14,21). Los reportes de *E. faecalis* en las infecciones endodónticas primarias tiene un rango muy amplio que va desde el 7.5 % hasta el 67.5 %, la presencia de este microorganismo en la infección primaria disminuye considerablemente las posibilidades de éxito del tratamiento (22,23).

1.1.4. *Biopelículas*

Anthony van Leeuwenhoek fue el primero en observar la biopelícula dental al tomar un poco del material que se acumulaba en sus dientes y observarlo bajo un microscopio simple fue capaz de ver el movimiento de pequeños objetos que describió como pequeños animales (24).

Actualmente, las biopelículas pueden definirse como una comunidad microbiana multicelular sésil caracterizada por células firmemente adheridas a una superficie y enredadas en una matriz de producción propia de sustancias poliméricas extracelulares. Las infecciones por biopelículas son responsables del 65 al 80 % de las infecciones humanas, la caries, gingivitis y periodontitis marginal son ejemplos de infecciones provocadas por biopelículas (13).

La adhesión de las biopelículas a la dentina está mediada por una gran variedad de factores, uno de los más importantes es la disponibilidad de películas acondicionadoras como la sangre o la saliva, la rugosidad de la superficie y su capacidad hidrofóbica también favorecen la unión de la biopelícula a la superficie (25).

Watnick y Kolter propusieron que las biopelículas son comparables con ciudades. En las ciudades de biopelículas los microorganismos se distribuyen geográficamente de acuerdo con quienes son sus vecinos y su medioambiente. Los microorganismos en estas ciudades deben ser capaces de comunicarse entre sí. La comunicación se da por medios químicos donde las bacterias reconocen cuando han alcanzado una masa crítica, con esta información las bacterias modifican su comportamiento para actuar en conjunto (13,26).

Las biopelículas bacterianas tienen una tolerancia de 100 a 1000 veces mayor a los antibióticos en comparación con sus contrapartes que nadan libremente. La tolerancia a los antibióticos puede conducir a infecciones recidivantes donde únicamente se disminuye la cantidad de bacterias dentro de la biopelícula sin eliminar por completo el patógeno (24).

1.1.5. *Irrigación*

Como se ha descrito antes, las variaciones anatómicas del SCR no permite la remoción mecánica completa del biofilm, para remover el biofilm alojado en las zonas inaccesibles para los instrumentos se requiere de un irrigante (27), la irrigación es un paso esencial en el tratamiento de conductos radiculares, pues disuelve los restos orgánicos de tejido y remueve los restos de tejido inorgánico que se genera durante la instrumentación y forma la “smear layer” (28).

La irrigación en endodoncia tiene tres objetivos principales:

- Mecánicos: enjuagar los desechos y lubricar el conducto.
- Químicos: disolver el tejido orgánico e inorgánico, prevenir la formación del barrillo dentinario y disolver el barrillo dentinario.
- Biológicos: eliminar microorganismos anaerobios facultativos planctónicos y en biopelícula, inactivar endotoxinas, no debe ser tóxico, ni cáustico y con un bajo potencial anafiláctico (29).

Desde 1943, Grossman recomienda un protocolo de irrigación con el objetivo de dar a conocer la importancia que tiene la irrigación en el éxito del tratamiento (30), la reducción de la carga bacteriana a un nivel en el cual el número de células restantes sea incapaz de mantener o inducir una infección periapical es un verdadero desafío (31). El hipoclorito de sodio (NaOCl) es la solución desinfectante más popular entre los endodoncistas, durante la Primera Guerra Mundial Dakin introduce el hipoclorito de sodio para tratar las heridas (32).

El hipoclorito de sodio se usa en concentraciones entre el 0.5 % y el 6 % y puede disolver el tejido orgánico, se debe usar durante la instrumentación como lubricante del conducto, se recomienda hacer recambios del NaOCl constantemente así como la agitación de la solución dentro del conducto para potencializar su acción (33). La eliminación de bacterias por parte del NaOCl no tiene relación con su concentración, pero la capacidad para disolver tejido si tiene relación con la concentración de la solución y el tiempo de exposición (29).

El NaOCl tiene ciertas desventajas como su toxicidad, su ineficacia para remover el barrillo dentinario, es corrosivo, puede causar decoloración y puede afectar la unión del sellador a la dentina (29). Además, puede ser inactivado o disminuir su acción por factores como: el exudado periapical, el tejido pulpar, el colágeno de la dentina y por la resistencia de los microorganismos a los irrigantes (34). Es importante tener en cuenta que el hipoclorito de sodio tarda 30 minutos en desinfectar el conducto por sí solo, por eso se busca activarlo para potenciar su acción y lograr el mismo efecto en menos de un minuto (28).

El EDTA es un quelante que se introdujo a la endodoncia en 1957 para instrumentar conductos calcificados, el EDTA es capaz de producir la muerte bacteriana al combinarse con los iones metálicos en la membrana celular, también es capaz de formar compuestos estables con el calcio. Una vez que se han unido todos los iones disponibles se detiene la disolución, lo que le da su efecto autolimitante al EDTA (29).

El EDTA se utiliza como parte del protocolo de irrigación para eliminar la capa de barrillo dentinario que contiene restos de tejido y algunos microorganismos, el barrillo dentinario está compuesto, por una parte, orgánica que es eliminada por el NaOCl y una parte inorgánica que se elimina por medio de quelantes, es importante recordar que el EDTA disminuye considerablemente la acción del NaOCl por esto no se recomienda alternar su uso durante el tratamiento (33).

Los protocolos de irrigación más aceptados buscan eliminar el tejido pulpar restante, los microorganismos y la capa de barrillo dentinario (35) en 1957 Richman introduce el ultrasonido a la práctica endodóntica, años más tarde Martin (1976) descubrió que la activación de un agente bactericida daba como resultado una mayor destrucción bacteriana (36).

La activación ultrasónica de las limas da como resultado la producción de corrientes acústicas para provocar el movimiento del irrigante en forma de vórtice alrededor de la lima, con esto aparece la cavitación que es el movimiento oscilatorio de las burbujas de gas en el campo acústico, estas burbujas microscópicas generan áreas de presión y producen calor al explotar, la remoción del biofilm de las complejidades

anatómicas depende del colapso de las burbujas cerca de la superficie donde se encuentran adheridos los microorganismos (36).

Para lograr una desinfección más profunda, Van der Sluis sugiere un protocolo de irrigación ultrasónica que consiste en 3 ciclos de 20 segundos donde se hace un recambio del NaOCl al 5.25 % entre cada activación para obtener un efecto acumulativo y lograr una mayor disolución de tejido orgánico (35). No obstante, otros estudios sugieren que la activación del hipoclorito de sodio con ultrasonido no reduce significativamente el número de bacterias dentro de los conductos y que es necesario desarrollar nuevas terapias complementarias para la desinfección del conducto o incrementar el tiempo de los ciclos para tener un mayor efecto acumulativo (37–39).

1.1.6. *Láser*

En 1960 Theodore Maiman utiliza por primera vez el acrónimo láser (amplificación de luz por emisión estimulada de radiación) para referirse al primer láser de rubí (40) a mediados de los 60 se reportaron métodos para la eliminación de caries dental con él usó de láser de rubí que aunque fueron efectivos para vaporizar la caries causaron necrosis pulpar (41).

La interacción del láser con la superficie dentinaria es específica y selectiva, se basa en la absorción y difusión, la luz del láser puede reflejarse en la superficie o emerger después de penetrar en el tejido. Cuanto mayor sea la absorción, menor será la profundidad de penetración, esto disminuye el aumento de la temperatura, pues la energía se absorbe en los tejidos (42,43).

1.1.7. *Tipos de láser*

- Láser de infrarrojo cercano (810 nm a 1340 nm): su afinidad por el agua y la hidroxiapatita es muy baja y da como resultado una mayor penetración a través de los túbulos dentinarios y se absorben por los pigmentos bacterianos para alcanzar las capas profundas de la dentina (43).

- Láser de infrarrojo medio (2780 nm y 2940 nm): su mayor absorción es por el agua que compone la pared dentinaria, su actividad bactericida es superficial, por el efecto fototérmico puede generar ablación de la dentina (43).
- Láser de dióxido de carbono (10,600 nm): su mayor afinidad es por la hidroxiapatita, pero también al agua, no puede usarse con fibra óptica, por esto su aplicación en endodoncia es limitada (43).

1.1.8. *Láser diodo*

El láser diodo es un láser semiconductor, en un principio se utilizaba para la hipersensibilidad dentinaria y como un biomodulador de la inflamación en tratamientos pulpares vitales. En la actualidad es un buen sustituto del láser Nd: YAG cuando se realizan tratamientos quirúrgicos o para la desinfección del conducto radicular. El láser diodo emite energía en una onda continua y cuenta con un sistema para interrumpir los impulsos. El impulso único (ton) no presenta variaciones en su emisión y su duración puede ser de microsegundos a milisegundos. La interrupción de la emisión permite seleccionar el tiempo entre un pulso y otro (ton/toff), esto es importante para permitir el enfriamiento del tejido. El uso de una fibra de 200 µm en el conducto radicular durante la desinfección del SCR permite alcanzar una profundidad de 500 a 750 µm (40).

El láser diodo se ha propuesto como una nueva herramienta en la desinfección del SCR por su capacidad para penetrar en los túbulos dentinarios y así eliminar casi en su totalidad el *E. faecalis*, el láser diodo de 980 nm tiene una gran absorción en agua y una baja absorción en hidroxiapatita que da como resultado la dispersión de luz en la dentina (44).

1.1.9. *Irrigación activada por láser*

La irrigación activada por láser (LAI) es una técnica alternativa a la irrigación ultrasónica, el mecanismo de limpieza se da por el rápido movimiento del irrigante en el conducto para generar la expansión e implosión de burbujas de vapor en la

punta de fibra del láser, también se generan ondas de choque y microburbujas de cavitación secundarias que aumentan la desinfección (45).

El NaOCl es capaz de disolver el tejido orgánico y matar microorganismos, pero su elevada tensión superficial solo permite una penetración en los túbulos dentinarios de 130 µm, mientras que las bacterias pueden llegar a los 1,100 µm, la elevada temperatura y la agitación continua del irrigante aumentan la capacidad del NaOCl de disolver el tejido (43,46), es posible que la acción turbulenta inducida por el láser de mejores resultados en la eliminación de biopelículas que la irrigación ultrasónica incluso si el irrigante no es un agente antimicrobiano (45).

1.2 Antecedentes específicos

Tokuc y cols. en 2018 realizaron un estudio con el objetivo de comparar la capacidad de desinfección de diferentes protocolos de irrigación con el uso de láser Er, Cr: YSGG y láser diodo. Para el estudio se utilizaron 95 premolares unirradiculares inoculados con *E. faecalis*, los dientes se dividieron de forma aleatoria en 5 grupos: control positivo, NaOCl al 5 %, láser Er, Cr: YSGG, láser Er, Cr: YSGG + NaOCl (LAI) y láser Er, Cr:YSGG + láser diodo. El grupo con la mayor eliminación de bacterias fue al combinar el láser Er, Cr: YSGG con NaOCl ($p < 0.005$), los grupos de láser Er, Cr: YSGG o láser Er, Cr: YSGG en combinación con láser diodo mostraron significativamente más bacterias que el grupo de láser Er, Cr: YSGG + NaOCl. Los autores concluyen que la eliminación del *E. faecalis* fue superior en el grupo de irrigación activada por láser (47).

En 2016, Asnaashari y cols. realizaron un estudio in vitro para comparar el efecto antibacteriano del láser diodo a diferentes longitudes de onda (810 nm y 980 nm). El estudio se realizó en 50 dientes anteriores que se instrumentaron con instrumentos Hero 642 y se irrigaron con 2 µmol de NaOCl y EDTA al 17 %, se dividieron en 4 grupos, se inocularon con *E. faecalis* y se incubaron por 2 semanas, el primer grupo experimental se irradió con láser diodo de 810 nm; el segundo grupo se irradió con láser diodo de 980 nm. Las UFC se cuantificaron antes y después de la aplicación del láser. El recuento de UFC disminuyó significativamente en ambos grupos después de la irradiación con láser diodo, para el grupo de láser diodo de 980 nm la reducción de las UFC paso de 4.9×10^{11} a 9.5×10^{7} UFC. La reducción de las UFC fue significativamente mayor con el láser de 810 nm, los recuentos bacterianos pasaron de 4.0×10^{12} UFC antes de la irradiación a 3.5×10^{6} después de la irradiación (46).

Neelakantan y cols. en 2015 evaluaron tres protocolos de irrigación activados por tres métodos diferentes. Se utilizaron 280 dientes unirradiculares divididos en 3 grupos experimentales y un grupo control. Grupo 1: mezcla 1:1 de NaOCl al 6 % y ácido etidrónico al 18 %; grupo 2: NaOCl al 3 % y EDTA al 17 %; grupo 3: NaOCl al 3 %, EDTA al 17 % seguido de un enjuague final con NaOCl al 3 %; el grupo control

se irrigó con solución salina. Se hicieron 4 subgrupos para el método de activación: sin activación, activación ultrasónica, láser diodo y Er: YAG. La viabilidad bacteriana se analizó con microscopio de barrido. Todos los protocolos de irrigación destruyeron la biopelícula en el conducto radicular, en los túbulos dentinarios se encontraron bacterias muertas, ambos tipos de láser mostraron mejores resultados en la reducción de la biopelícula que la activación ultrasónica y la irrigación con jeringa. A una profundidad de 200 micras, todos los grupos, excepto el control, tuvo una reducción logarítmica de bacterias de 7 (no mostraban crecimiento). A 400 micras, el grupo que uso NaOCl y ácido etidrónico mostró una reducción logarítmica de bacterias de 5 cuando se utilizó láser de diodo o PIPS para la activación. Esto fue significativamente menor que las UFC/mL del grupo 3 (NaOCl-EDTA-NaOCl) al usar los mismos métodos de activación (48).

Borges y cols. en el 2017, evaluaron el efecto antibacteriano y las alteraciones estructurales del láser diodo en longitudes de onda de 808 nm y 970 nm, también se estudió su efecto al combinarse con NaOCl al 2.5 % y CHX al 2 %. Se usaron 100 bloques de dentina que se inocularon con *E. faecalis* y se dividieron en 10 grupos. G1: 5 ml de NaOCl al 2.5 %; G2: 5 ml de NaOCl al 2.5 % + láser diodo de 808 nm; G3: 5 ml de NaOCl al 2.5 % + láser diodo de 970 nm; G4: Láser diodo de 808 nm; G5: Láser diodo de 970 nm; G6: CHX 2 %; G7: CHX 2 % + láser diodo de 808 nm; G8: CHX 2 % + láser diodo de 970 nm; G9: control positivo y G10: control negativo. El crecimiento bacteriano se analizó por turbidez y densidad óptica. El grupo uno presentó la mayor actividad antimicrobiana (77.5 ± 12.1) aunque tuvo similitud estadística con los grupos dos (68.7 ± 8.7), tres (68.7 ± 8.7), cinco (68.3 ± 8.7), seis (62.0 ± 5.5) y siete (67.5 ± 3.3). El láser diodo de 808 nm provoco erosión de la dentina intertubular mientras que la longitud de onda de 970 presentó una

capa de matriz orgánica amorfa con dentina intertubular fundida. La asociación de láser diodo con soluciones desinfectantes no aumento significativamente la actividad antibacteriana (49).

En 2019, Sarda y cols. compararon la actividad antibacteriana del láser diodo, la terapia fotodinámica y el NaOCl. Se requirieron 120 dientes unirradiculares que se

dividieron en dos grupos al azar para ser inoculados con *E. faecalis* o *S. mutans*. Se subdividieron en seis grupos. G1: láser diodo; G2: desinfección fotoactivada; G3: NaOCl al 3 %; G4: NaOCl al 3 % + láser diodo; G5: NaOCl al 3 % + desinfección fotoactivada; G6: grupo control. Hubo una reducción del 98 % en el recuento de *E. faecalis* en el grupo 4 y grupo 5, la reducción del *S. mutans* en los grupos 4 y 5 fue del 96 y 97 % respectivamente. Los resultados de este estudio demuestran una mayor eficiencia en la reducción de patógenos al usar láser diodo en conjunto con el NaOCl (44).

Makkar y cols. en 2022 realizaron un estudio en 72 dientes unirradiculares extraídos con el objetivo de comparar la eficacia antimicrobiana del quitosano al 0.2 %, el hipoclorito de sodio al 3 % y la clorhexidina al 2 % contra *E. faecalis*, solos y en combinación con láser de diodo. Los dientes se dividieron en 4 grupos principales: G1: Solución salina, G2: quitosano al 2 %, G3: hipoclorito de sodio al 3 % y G4: clorhexidina al 2 %. Estos grupos se subdividieron en tres grupos: GI: 10 ml de irrigante, GII: 10 ml de irrigante que fue secado y posteriormente se irradió el conducto con láser y GIII: activación del irrigante con láser diodo. De cada grupo y subgrupo se obtuvieron muestras con puntas de papel que se colocaron en medio de cultivo estéril y fueron analizadas por turbidez y recuento de UFC en placa. Los resultados revelaron que el número de UFC supervivientes varía en función del irrigante. Para la solución salina el número de UFC/mL fue de 1-125, para el NaOCl fue de 1-70 UFC/mL, el quitosano tuvo 1-2 UFC/mL y la clorhexidina mostró 0 UFC/mL. Los autores concluyen que la actividad antimicrobiana del láser diodo de 810 nm solo no es suficiente para desinfectar el conducto, la irradiación con láser debe acompañarse de una solución desinfectante para obtener el máximo efecto antibacteriano (50).

2. Planteamiento del problema y pregunta de investigación

Décadas atrás se llegó a la conclusión que las condiciones dentro del SCR hacen imposible lograr el tratamiento ideal, cada caso presenta un desafío único desde el diagnóstico hasta las complicaciones que se pueden presentar durante el tratamiento. Dentro de las situaciones adversas a la que se enfrenta el endodoncista es a la eliminación del biofilm bacteriano, para esto se recurre al uso de desinfectantes como el hipoclorito de sodio para lograr disolver el tejido vital y necrótico, así como para eliminar las bacterias presentes en el conducto.

En estudios anteriores se ha demostrado que el hipoclorito de sodio no cumple con todos los criterios del irrigante ideal, por años se ha buscado desarrollar nuevos irrigantes superiores al hipoclorito de sodio. Las principales desventajas del hipoclorito son su toxicidad, requiere de al menos 30 minutos para desinfectar el conducto, es ineficaz para remover el barrillo dentinario, su corrosividad, su daño al tejido dentinario remanente, su decoloración y su efecto sobre la unión del sellador a la dentina. Asimismo, es importante señalar las complejidades del SCR, que son un reservorio de tejido necrótico y bacterias difíciles de eliminar debido a su ubicación, y que solo serán afectadas si el irrigante alcanza dichas zonas y tiene contacto con las bacterias durante el tiempo necesario para eliminarlas.

En consecuencia, surge el objetivo de elaborar protocolos de activación del hipoclorito de sodio para mejorar su eficacia, al tener en cuenta la concentración, el tiempo y la temperatura que el hipoclorito requiere para ejercer su acción. Los protocolos de activación con ultrasonido son de gran ayuda, aunque la literatura indica que no en todos los casos podrá reducir significativamente las bacterias en el SCR. Este problema se vuelve crítico al tener en cuenta que el éxito en los casos de retratamientos o de anatomías complejas depende de la capacidad del irrigante para entrar en contacto con las bacterias que provocan la infección.

Al activar el irrigante con ultrasonido, se pretende desplazar el irrigante a las zonas inaccesibles para los instrumentos a la vez que se reduce el tiempo de trabajo. Los aditamentos que se utilizan para activar la solución son muy delgados, pues la técnica requiere que los aditamentos no tengan contacto con las paredes del

conducto y es fácil que se separen al no poder adaptarse al SCR, esto agrega un nuevo factor que puede favorecer el fracaso del tratamiento.

La activación del hipoclorito de sodio mediante láser es una alternativa prometedora, ya que ha demostrado buenos resultados en estudios in vitro, entre sus beneficios se encuentra la capacidad de penetrar en los túbulos dentinarios entre 500 y 750 micrómetros, esto es superior a los 130 micrómetros que el NaOCl es capaz de alcanzar. En la actualidad, no existe un protocolo establecido para la activación del NaOCl con láser, parte del problema son los parámetros para su uso que no siempre son mencionados y, en caso de ser mencionados, varían demasiado entre un estudio y otro. Los parámetros que deben tenerse en cuenta para elaborar un protocolo estandarizado son: la potencia, el modo de empleo, la técnica de irradiación, la longitud de onda, la duración de cada ciclo de activación y el periodo de tiempo de descanso entre ciclos. Dado que el endodoncista se enfrenta cada vez más a dificultades, es fundamental desarrollar técnicas más efectivas para la activación del hipoclorito de sodio y, más aún, estandarizar los protocolos, para permitir que sean reproducibles en la práctica diaria.

Con base en lo anterior se planteó la siguiente pregunta de investigación:

¿La activación del hipoclorito de sodio con láser Biolase de 940 nm es capaz de disminuir significativamente las unidades formadoras de colonias de *E. faecalis* en comparación con la activación ultrasónica a 28 kHz?

3. Justificación

El tratamiento de conductos tiene como objetivo evitar o tratar la periodontitis apical, ya que en un órgano dentario necrótico se encuentran diversas especies bacterianas que colonizan el conducto principal y sus complejidades anatómicas. La endodoncia se realiza con el fin de reducir significativamente las colonias bacterianas para permitir la curación de los tejidos perirradiculares.

Se han desarrollado diversos protocolos de desinfección quimiomecánica para disminuir las colonias bacterianas intraconducto, la mayoría de estos protocolos conceden el mayor peso a la desinfección química del conducto por medio de soluciones desinfectantes como el hipoclorito de sodio, que es capaz de disolver el tejido orgánico y eliminar bacterias. El protocolo más utilizado para activar el hipoclorito de sodio es por medio del ultrasonido, este protocolo ha probado ser útil para potencializar el efecto del hipoclorito de sodio, para permitir desplazar el irrigante a las zonas inaccesibles para los instrumentos rotatorios a la vez que reduce el tiempo de desinfección del conducto. Sin embargo, los estudios no demuestran una disminución significativa de la carga bacteriana en el conducto, lo que conlleva a un probable fracaso del tratamiento de conductos.

La introducción del láser en la endodoncia brinda una nueva oportunidad para desarrollar nuevos protocolos de desinfección. En el mercado odontológico, el láser diodo es el más versátil por sus diversas aplicaciones clínicas, además de ser el más accesible y fácil de transportar. Es particularmente útil en el ámbito endodóntico debido a su elevada penetración en los túbulos dentinarios y su capacidad para potenciar el efecto antibacteriano de los irrigantes. La activación con láser del hipoclorito de sodio produce corrientes acústicas más violentas que las producidas por el ultrasonido, esto permite desplazar las soluciones irrigantes a una mayor profundidad dentro de los túbulos dentinarios. Esto es particularmente interesante, ya que permite sepultar a las bacterias remanentes más lejos del conducto principal para evitar una reinfección. Asimismo, hace posible que el irrigante tenga un mejor acceso a las complejidades anatómicas.

Hasta el momento no se ha desarrollado un protocolo de activación con láser estandarizado que siga los mismos parámetros operativos y que se aplique con la misma técnica. Para poder determinar si un protocolo es superior a otro es necesario que ambos protocolos sean probados en condiciones ideales, y después trasladarlos a las complicaciones clínicas. Este paso es más complicado cuando los protocolos a comparar no han sido estandarizados, pues dificulta la comparación de los parámetros.

En este estudio se propuso un protocolo de desinfección con láser diodo a 940 nm de longitud de onda y 1.5 W. Para tener un mayor control de las variables del estudio, se realizó en modelos de acrílico del SCR que midieran 16 mm y se comparó su eficacia con el protocolo de activación con ultrasonido, que es el más utilizado por los endodoncistas.

Se requieren nuevos protocolos de activación que permitan, por su eficacia, utilizar el hipoclorito de sodio en menores concentraciones para reducir sus desventajas, además de lograr que los irrigantes penetren a una mayor profundidad dentro de los túbulos dentinarios. En esta investigación se buscó desarrollar un protocolo de activación del hipoclorito de sodio con láser en el que se establecieran parámetros claros para el uso del láser, para determinar su efectividad se comparó con el protocolo más utilizado clínicamente por los endodoncistas que es la activación del hipoclorito de sodio con ultrasonido.

4. Hipótesis

Hi: La activación del hipoclorito de sodio con láser Biolase de 940 nm disminuye la cantidad de unidades formadoras de colonias de *E. faecalis* comparado con la activación ultrasónica a 28 kHz.

Ho: La activación del hipoclorito de sodio con láser Biolase de 940 nm no disminuye la cantidad de unidades formadoras de colonias de *E. faecalis* comparado con la activación ultrasónica a 28 kHz.

5. Objetivo

5.1. Objetivo general

Comparar la disminución de bacterias después de la activación del hipoclorito de sodio con láser Biolase de 940 nm vs activación ultrasónica a 28 kHz en conductos de acrílico.

5.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia de *E. faecalis* de acuerdo con el estándar de McFarland antes de la desinfección del conducto con hipoclorito de sodio activado con láser.
- Determinar la ausencia de *E. faecalis* de acuerdo con el estándar de McFarland después de la desinfección del conducto con hipoclorito de sodio activado con láser.
- Determinar la presencia de *E. faecalis* de acuerdo con el estándar de McFarland antes de la desinfección del conducto con hipoclorito de sodio activado con ultrasonido.
- Determinar la ausencia de *E. faecalis* de acuerdo con el estándar de McFarland después de la desinfección del conducto con hipoclorito de sodio activado con ultrasonido.

- Determinar la presencia de *E. faecalis* de acuerdo con el estándar de McFarland antes de la desinfección del conducto con hipoclorito de sodio sin activar.
- Determinar la ausencia de *E. faecalis* de acuerdo con el estándar de McFarland después de la desinfección del conducto con hipoclorito de sodio sin activar.
- Comparar la ausencia de *E. faecalis* de acuerdo con el estándar de McFarland después de la desinfección del conducto con hipoclorito de sodio activado con láser o con ultrasonido.

6. Material y métodos

6.1. Diseño del estudio

- De acuerdo con la intervención del investigador, fue un estudio experimental.
- De acuerdo con la medición del fenómeno en el tiempo, fue un estudio prospectivo.
- De acuerdo con el número de mediciones, fue un estudio longitudinal.
- Según la captación de la información, fue un estudio *in vitro*, realizado en el laboratorio.
- Según la población en estudio, fue una investigación analítica.

6.2. Población y muestra

La población del estudio consistió en modelos de acrílico del SCR de 16 mm de longitud.

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia donde se seleccionaron 60 modelos de acrílico del SCR y se dividieron en 4 grupos al azar.

6.3. Criterios de selección

6.3.1. *Inclusión*

- Modelos de acrílico del SCR de 16 mm de longitud fabricados por ACMEDENT.
- Cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 51299).

6.3.2. *Exclusión*

- Modelos de acrílico del SCR de 16 mm de longitud fabricados por otras compañías.
- Modelos de acrílico del SCR fabricados por ACMEDENT con una longitud mayor o menor a 16 mm.

6.3.3. *Eliminación*

- Incapacidad para medir las variables del estudio.
- Muestras contaminadas con otros microorganismos.
- Muestras sin crecimiento bacteriano previo a la desinfección.

6.4. Variables

- Variable dependiente: Presencia o ausencia de bacterias después de la desinfección.
- Variable independiente: Láser Epic X, activación ultrasónica, hipoclorito de sodio.

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA Y CATEGORÍAS
***E. Faecalis* antes de la activación.**	Indicador de la cantidad de microorganismos vivos en un líquido. Es un valor determinado por el número de colonias individuales.	Recuento de las ufc se antes de la desinfección del conducto por medio de turbidez y siembra en placa.	Cualitativa Dicotómica. Turbidez a las 24 hrs. presencia o ausencia en placa.
***E. Faecalis* después de la activación.**	Indicador de la cantidad de microorganismos vivos en un líquido. Es un valor determinado por el número de colonias individuales.	Recuento de las ufc se después de la desinfección del conducto por medio de turbidez y siembra en placa.	Cualitativa Dicotómica. Turbidez a las 24 hrs. presencia o ausencia en placa.

Tabla 1: Variables dependientes.

VARIABLES INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA Y CATEGORÍAS
Láser diodo.	Láser es un acrónimo para amplificación de luz por emisión estimulada de radiación (por sus siglas en inglés). Su longitud de onda va de 800 a 980 nm.	Activación del NaOCl al 5.25% con la fibra óptica a 1 mm del ápice en tres ciclos de 20 segundos.	Dicotómica. Longitud de onda 940 nm y 1.5 w de energía.
Activación ultrasónica.	Emplea la energía ultrasónica para generar vibración transversal en la lima para generar nodos y antinodos en el irrigante. Su potencia es de 28-32 kHz.	Activación del NaOCl al 5.25% con la punta Irrisafe a 1 mm del ápice en tres ciclos de 20 segundos.	Dicotómica. 28-32 kHz.
Hipoclorito de sodio al 5.25%	Compuesto químico altamente oxidante. Por sus características se usa como desinfectante y blanqueador.	Líquido desinfectante, extremadamente alcalino con acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos.	Dicotómica 3 ml.

Tabla 2: Variables independientes.

6.5. Concordancia y fiabilidad

Los procedimientos a seguir se basaron en el estudio de De Meyer y cols (45) y en el estudio de Kushwah y cols (51).

El investigador aprendió de un experto la técnica de turbidez de acuerdo con el estándar de McFarland y la técnica de sembrado con micropipeta para el cultivo del *E. faecalis*.

Previo a iniciar la fase experimental, se realizó una prueba piloto respecto a la medición de la turbidez y al sembrado del cultivo de *E. faecalis*.

La estandarización respecto a la evaluación de turbidez al ser variables cualitativas se calculó con Kappa de Cohen, se obtuvo un resultado de 0.867 (Anexo 1).

6.6. Ubicación espacio temporal

Laboratorio de Investigación en Microbiología Oral de la Facultad de Estomatología de la BUAP, en el período enero-mayo 2023.

6.7. Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección

6.7.1. *Preparación De Los Conductos Artificiales*

Los conductos artificiales se instrumentaron con el sistema Blue Shaper hasta Z4 (25/06). La parte apical de cada conducto se selló con resina. Los modelos se esterilizaron en autoclave a 121 °C por 20 minutos.

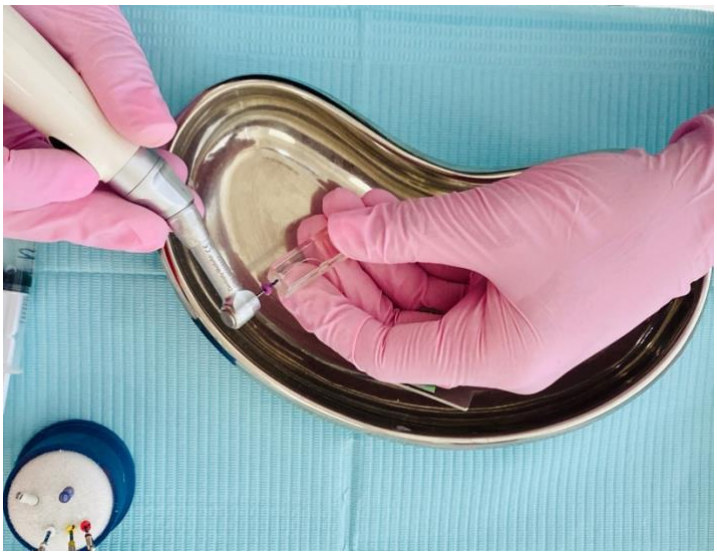


Imagen 1: Preparación de los modelos de acrílico.

6.7.2. Cultivo de *E. faecalis*

Al igual que en el estudio de Kushwah y cols. (51) se cultivó la cepa de *E. faecalis* (ATCC 51299) en 5 ml de caldo de infusión de cerebro y corazón (BHI) a 37 °C durante 24 horas y se registraron los cambios en la turbidez para observar el crecimiento bacteriano. Se mezcló una gota de BHI con *E. faecalis* en solución salina y se usó un espectrofotómetro para verificar la concentración bacteriana. La densidad de la suspensión bacteriana se estandarizó al comparar el caldo de cultivo

a una densidad equivalente al estándar de McFarland a 0.5 unidades, que equivale a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL).

Los conductos se inocularon con 20 µL de caldo de cultivo, los conductos de acrílico se dividieron al azar en 4 grupos con 15 conductos cada uno. Los modelos de los conductos se mantuvieron en contenedores de vidrio de sellado hermético en la incubadora por 24 horas a 37 °C.

Imagen 2: Inoculación de los conductos con E. faecalis.

6.7.3. *Grupos experimentales*

Los conductos se dividieron en 4 grupos:

- Grupo A: Láser Epic X + NaOCl al 5.25 %.
- Grupo B: Irrigación ultrasónica con NaOCl 5.25 %.
- Grupo C: Irrigación simple con NaOCl al 5.25 %.
- Grupo D: Control crecimiento bacteriano (no reciben tratamiento).

Para tener una muestra microbiana de referencia previa a la desinfección del conducto, los conductos se llenaron con solución salina estéril y se colocó una punta de papel estéril marca Hygenic número 25 dentro del conducto por 30 segundos que se frotó en las paredes del conducto para obtener la mayor cantidad posible de

microorganismos y se transfirió a un microtubo Eppendorf estéril con 1 ml de caldo de cultivo cerebro corazón estéril que se agitó en el vórtex por 20 segundos, se tomaron dos muestras de 10 µL con una micropipeta y se sembraron en una placa Mueller-Hinton para cultivarse a 37 °C por 24 horas.

Grupo A: Láser Epic X + NaOCl al 5.25 %.

Se colocó NaOCl al 5.25 % hasta llegar a la cámara pulpar y activó con el láser diodo Epic X de Biolase con una energía de 1.5 W y longitud de onda de 940 nm. Con base en la técnica de Gutknecht y cols. (52) la fibra óptica se introdujo en el conducto a 1 mm del ápice y se retiró en movimientos helicoidales a una velocidad de 2 mm/s por 20 segundos, se realizó un recambio del hipoclorito de sodio y se repitió el proceso con intervalos de 20 segundos entre cada ciclo para evitar el calentamiento de las paredes del conducto. Se realizaron 3 ciclos de irrigación, en cada ciclo se inundó el conducto hasta la cámara pulpar con de hipoclorito de sodio. Después del tratamiento se realizó un lavado final con solución salina y se tomó una muestra con punta de papel como se describió anteriormente.

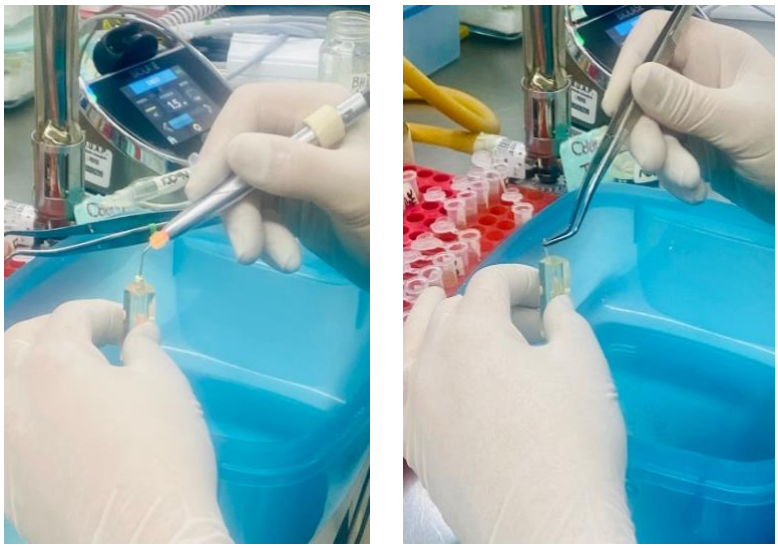


Imagen 3: Activación del NaOCl con láser y toma de la muestra.

Grupo B: Irrigación ultrasónica (NaOCl 5.25 %).

Se colocó NaOCl al 5.25 % hasta llegar a la cámara pulpar. El irrigante se activó con un aditamento no cortante (punta Irrisonic) a 1 mm del ápice por 20 segundos, se realizó un recambio del hipoclorito de sodio y se repitió el proceso en 3 ocasiones. Se realizó un lavado final con solución salina y se tomó una muestra con una punta de papel como se describió anteriormente.

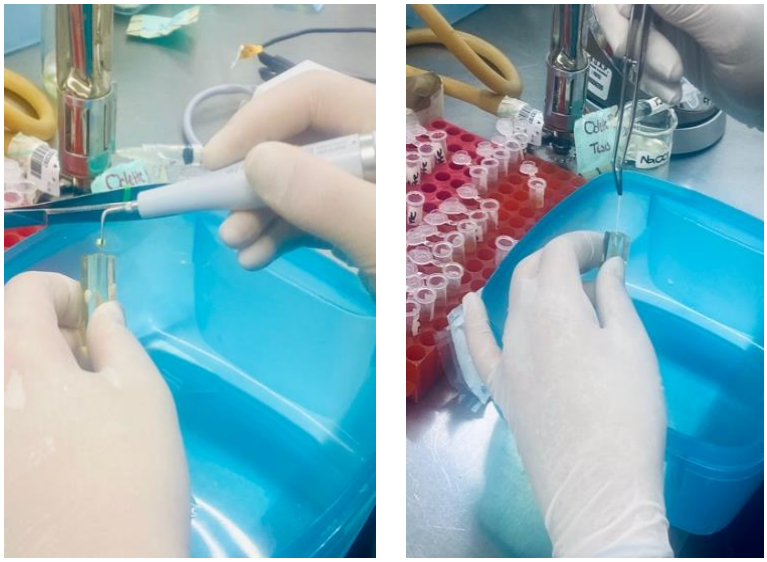


Imagen 4: Activación del NaOCl con US y toma de la muestra.

Grupo C: Irrigación simple con NaOCl al 5.25 %.

Se colocará NaOCl al 5.25 % hasta llegar a la cámara pulpar. El irrigante no se activó, se dejó en el conducto por 20 segundos y se realizaron recambios hasta cumplir 3 ciclos de 20 segundos como se describió anteriormente. Se realizó un lavado final con solución salina y se tomó una muestra con punta de papel.

Imagen 5:Irrigación con NaOCl al 5.25 % y sembrado con micropipeta.

Grupo D: Control negativo.

15 conductos radiculares se inocularon con *E. faecalis,* pero no recibieron tratamiento. Se tomaron muestras para confirmar la infección del conducto.

Las pruebas se realizaron en 5 conductos cada vez repitiendo el proceso en tres ocasiones para obtener un total de 15 conductos por cada grupo del estudio y de esta manera comprobar que los resultados del estudio son reproducibles.

6.8. Análisis estadísticos

Se realizó el análisis de los datos por estadística descriptiva, pues las variables del estudio son dicotómicas y solo miden la presencia o ausencia de las bacterias, por esto se reportó únicamente como porcentajes de crecimiento bacteriano.

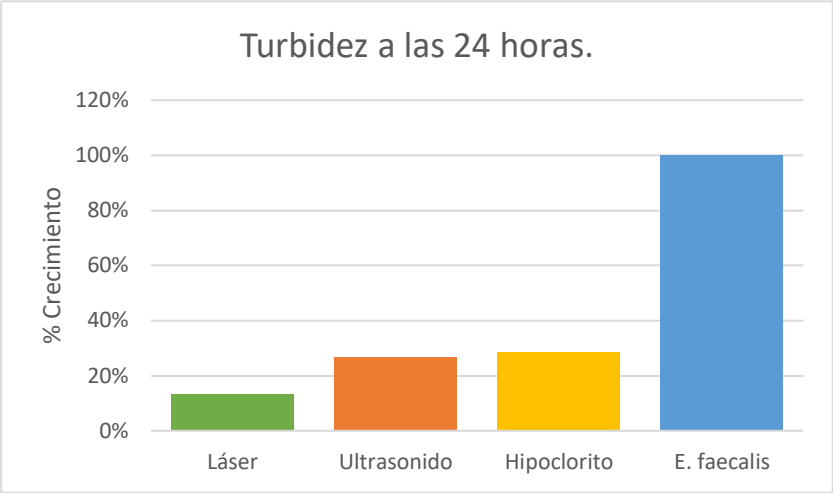
7. Resultados

El porcentaje de bacterias supervivientes en el grupo de activación con láser (grupo A) fue del 13 % después de la desinfección. Para el grupo de activación con ultrasonido (grupo B) hubo crecimiento bacteriano postratamiento en el 27 % de los modelos. El grupo de irrigación simple con hipoclorito (grupo C) mostró un 29 % de crecimiento bacteriano después de la desinfección del conducto. En este grupo se eliminó un modelo, pues no hubo crecimiento bacteriano en las muestras previas a la desinfección. El grupo D (control) mostró crecimiento en todas las muestras (100 %). Los resultados del crecimiento bacteriano postratamiento se muestran en la Tabla 3 y la Gráfica 1.

Modelo CR	Láser	Ultrasonido	Hipoclorito	*E. faecalis*
1	0	1	0	1
2	0	0	1	1
3	0	1	0	1
4	0	0	0	1
5	0	0	0	1
6	0	0	1	1
7	1	0	0	1
8	0	0	-	1
9	0	1	1	1
10	0	0	1	1
11	0	0	0	1
12	0	0	0	1
13	0	0	0	1
14	1	0	0	1
15	0	1	0	1
% Crecimiento	13%	27%	29%	100%

Tabla 3: Porcentaje de crecimiento bacteriano posterior a la desinfección.

(-) muestra eliminada



Gráfica 1: Turbidez a las 24 horas.

En las imágenes se muestra el crecimiento bacteriano en placas después de la desinfección. En la imagen 7 se puede observar que el crecimiento bacteriano después de la desinfección en la placa D muestra una colonia aislada, mientras que en la placa E en la muestra B-1 el crecimiento fue mayor, pero, aun así, son cuantificables, sin embargo, para la placa F en la muestra C-1 es imposible cuantificar el crecimiento, pues las UFC crecieron en mayor proporción que en los dos grupos anteriores.

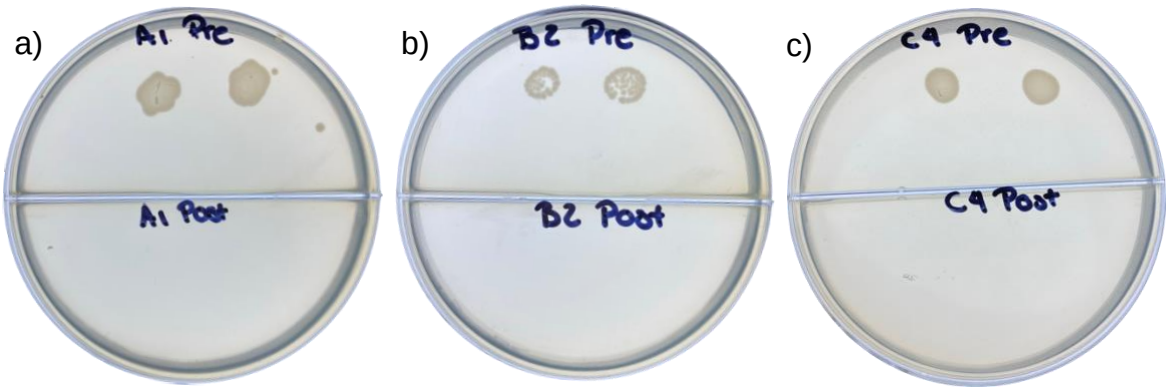


Imagen 6: Siembra en placa. (a) Activación con láser sin crecimiento a las 24 h (b) Activación con ultrasonido sin crecimiento a las 24 h (c) Irrigación con NaOCl sin crecimiento a las 24 h.

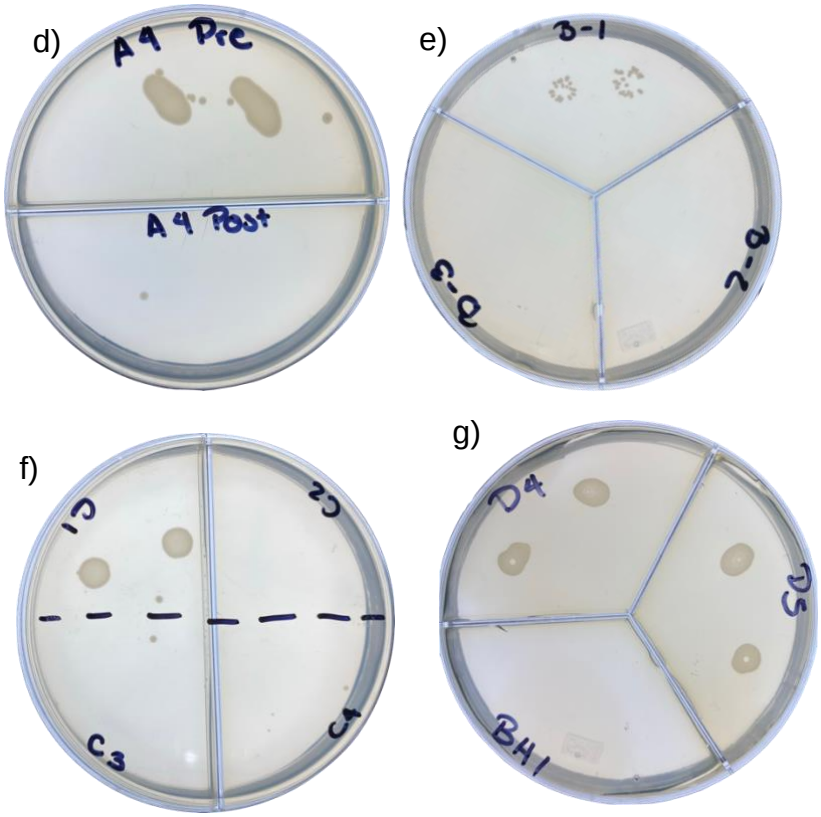


Imagen 7: Siembra en placa. (d) Activación con láser con crecimiento a las 24 h (e) Activación con ultrasonido con crecimiento a las 24 h (f) Irrigación con NaOCl con crecimiento a las 24 h (g) Grupos control.

8. Discusión

El fracaso en el TCR se debe a la formación de biopelículas en las paredes del conducto radicular. Después del tratamiento de conductos primario, la irrigación mejora la tasa de éxito del tratamiento de conductos (53). En esta investigación se propuso un protocolo para activar el hipoclorito con láser comparándolo con la activación con ultrasonido. Los resultados obtenidos de forma cualitativa demuestran una mayor disminución de las UFC en el grupo experimental de activación con láser en comparación con el grupo de activación con ultrasonido.

El modelo experimental de la presente investigación está basado en estudios previos que evaluaron la efectividad de diferentes protocolos de irrigación (45,54–56). Los modelos de acrílico se utilizan para evaluar protocolos de irrigación con la finalidad de mantener los parámetros del SCR bajo las mismas condiciones en todo momento. Con esto, es posible controlar la longitud y diámetro del conducto, así como el volumen de solución que es capaz de contener. Para este estudio los modelos tuvieron una longitud de 16 mm, con un diámetro apical 25/06 y un volumen de 20 µL.

Se decidió usar *Enterococcus faecalis* en este estudio por su capacidad para adaptarse y sobrevivir en entornos adversos donde hay poco oxígeno y los nutrientes son escasos. Es un patógeno capaz de soportar un pH extremadamente alcalino de 11.5. El *E. faecalis* puede generar biopelículas en las paredes del conducto sin necesidad de hacer sinergismo con otras bacterias. Los factores de virulencia del *E. faecalis* (citolisina, sustancia de agregación, feromonas, ácido lipoteicoico y enzimas líticas) le permiten desarrollar mecanismos de resistencia contra los medicamentos intraconducto y los desinfectantes como el hipoclorito de sodio (23,57,58).

El hipoclorito de sodio es el irrigante de elección en endodoncia por su excepcional acción antibacteriana contra diversos tipos de microorganismos. El hipoclorito es capaz de desorganizar las biopelículas bacterianas y afecta factores de virulencia como las endotoxinas y el ácido lipoteicoico además de ser económico y tener una amplia disponibilidad (59). Entre las desventajas del hipoclorito de sodio se

encuentra la capacidad alterar el módulo de elasticidad de la dentina, su toxicidad y su efecto cáustico (60).

El láser Epic X de Biolase emite una longitud de onda de 940 nm con una potencia de salida máxima de 10 W. Este láser tiene múltiples aplicaciones clínicas como la incisión, escisión, vaporización, ablación y coagulación de los tejidos blandos orales. Dentro de los usos para endodoncia se encuentra la eliminación del tejido pulpar infectado o inflamado. El láser diodo se utiliza para la desinfección del conducto porque puede llegar a una profundidad de 500-750 µm dentro de los túbulos dentinarios (61).

Beer y cols. en 2012 realizaron un estudio *in vitro,* con láser diodo de 940 nm de longitud de onda a 4.5 W de energía, en los cuales no se utilizó irrigante, aplicaron 5 ciclos de irradiación del láser por 5 segundos para provocar un daño letal sobre la pared celular del *E. faecalis* en conductos radiculares. Los resultados mostraron una reducción promedio del *E. faecalis* del 98.66 % al irradiar el conducto radicular y la cámara pulpar (62). En contraste, en nuestro estudio la reducción del *E. faecalis* fue del 87 % al activa el hipoclorito de sodio al 5.25 % con un láser diodo a 940 nm de longitud de onda con una energía de 1.5 W en los modelos acrilico. Se debe tomar en consideración la resistencia del *E. faecalis* a los tratamientos actuales y la incapacidad para desarrollar nuevos irrigantes que cumplan con las características del irrigante ideal, surge la necesidad de desarrollar nuevos protocolos de irrigación. Con base en lo anterior y con los resultados de la presente investigación, se puede inferir que la activación del hipoclorito de sodio con láser diodo es un punto intermedio entre la irradiación directa de la dentina, que puede generar calcinación, y la activación con ultrasonido que no logra distribuir el irrigante en todas las complejidades del SCR.

El uso de láser diodo para activar el hipoclorito de sodio es una opción prometedora, pues el láser por sí mismo tiene cierto efecto antibacteriano. La luz láser tiene una baja absorción en la dentina, pero una penetración profunda en la dentina intertubular. El efecto bactericida se produce al no tener absorción en el tejido duro, afecta la pared celular bacteriana deteniendo el crecimiento bacteriano (58,63).

En el 2022 Hama Gharib (64) y cols. realizaron un estudio con el objetivo de desarrollar nuevos medicamentos intraconducto, el estudio comparo la eficacia del hidróxido de calcio, la clorhexidina al 2 %, el láser diodo de 940 nm y dos extractos naturales para la reducción del *E. faecalis*. Los resultados del estudio demostraron que el láser diodo y la clorhexidina al 2 % son superiores para la desinfección intraconducto. Los autores emplearon el láser Epic X de Biolase a 940 nm a 0.5 W y lograron un 30 % de supervivencia bacteriana después de la irradiación del conducto. Los resultados de esta investigación mostraron que el 13 % de *E. faecalis* sobrevivió en el grupo tratado con láser. Probablemente, la diferencia entre ambos estudios se deba a que en esta investigación se utilizó el láser para activar el hipoclorito de sodio y potencializar su efecto desinfectante, mientras que Hama Gharib y cols. irradiaron la dentina directamente (64).

El hipoclorito de sodio sigue siendo el estándar de oro para la desinfección del conducto radicular, pues incluso sin ser activado mostró eliminar bacterias, sin embargo, el grupo de NaOCl mostró el mayor número de crecimiento bacteriano después de 24 horas. Nuestros resultados coinciden con los resultados del estudio de Sarda y cols., (44) donde se encontró un crecimiento del 27 % de *E. faecalis* después de la desinfección con NaOCl sin activación; en el presente estudio el porcentaje de crecimiento bacteriano después de la desinfección con NaOCl sin activación fue del 29 %, resultados muy similares. En el mismo estudio, los autores utilizaron el láser diodo de Doctor Smile a 980 nm de longitud de onda y 1.5 W para activar el hipoclorito de sodio, donde obtuvieron un porcentaje de reducción bacteriana del 98 %. En el presente trabajo, el láser utilizado para activar el NaOCl fue el Epic X a 940 nm y 1.5 W. Los resultados en este grupo también fueron similares a los de Sarda y cols. al obtener una reducción del *E. faecalis* del 87 % en el grupo de activación con láser y una reducción del 73 % en el grupo de activación con ultrasonido a 28 kHz.

Hasta el momento no hay estudios realizados con el láser Biolase Epic X que evalúen la activación del hipoclorito de sodio para mejorar la desinfección del conducto. Los resultados de esta investigación han demostrado que activar el hipoclorito de sodio con láser genera una reducción en la presencia de bacterias

después de la desinfección comparada con la activación de irrigante con ultrasonido o la acción del irrigante por sí mismo.

Los resultados de la presente investigación justifican retomar el modelo experimental y replicarlo para cuantificar la UFC o incluso realizarlo en órganos dentarios extraídos. Así mismo, los estudios de irrigación presentan la dificultad de replicar las biopelículas que se desarrollan dentro del conducto radicular en modelos *in vitro*.

9. Conclusión

Dentro de las limitaciones de este estudio se comprobó que la activación del hipoclorito de sodio con láser Biolase de 940 nm disminuye la presencia de *E. faecalis* comparado con la activación ultrasónica a 28 kHz. Es necesario realizar estudios posteriores cuantificando las UFC además de explorar la desinfección del conducto radicular con diferentes parámetros de láser y diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio.

10. Bibliografía

1. Patel B. Aetiology and pathogenesis of pulp disease. In: Endodontic Diagnosis, Pathology, and Treatment Planning. Canberra, ACT: Springer International Publishing; 2015. p. 21–34.

2. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1984 Nov;58(5):589–99.

3. Hargreaves KM, Cohen S. Cohen vías de la pulpa. Barcelona; España: Elsevier; 2011.

4. Vertucci FJ. Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. Endod Top. 2005 Mar;10(1):3–29.

5. Siqueira Junior JF, Rôças I das N, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Ricucci D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. Braz Oral Res. 2018 Oct 18;32(suppl 1).

6. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. Endod Top. 2005 Mar;10(1):77–102.

7. De-Deus G, Belladonna FG, Silva EJNL, Marins JR, Souza EM, Perez R, et al. Micro-CT Evaluation of non-instrumented canal areas with different enlargements performed by NiTi systems. Braz Dent J. 2015 Dec;26(6):624–9.

8. Jiang LM, Lak B, Eijsvogels LM, Wesselink P, van der Sluis LWM. Comparison of the cleaning efficacy of different final irrigation techniques. J Endod. 2012 Jun;38(6):838–41.

9. Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by dental bacteria. Crit Rev Oral Biol Med. 2002 Mar;13(2):171–83.

10. Bjørndal L, Simon S, Tomson PL, Duncan HF. Management of deep caries and the exposed pulp. Int Endod J. 2019 Jul;52(7):949–73.

11. Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions: Update on endodontic irrigating solutions. Endod Top. 2012 Sep;27(1):74–102.

12. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965

Sep;20(3):340–9.

13. Siqueira JF, Rôças IN, Ricucci D. Biofilms in endodontic infection: Biofilms and apical periodontitis. Endod Top. 2010 Mar;22(1):33–49.

14. Haapasalo M, Udnaes T, Endal U. Persistent, recurrent, and acquired infection of the root canal system post-treatment. Endod Top. 2003 Nov;6(1):29–56.

15. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiol Immunol. 2004 Apr;19(2):71–6.

16. Zeldow BJ, Ingle JI. Correlation of the positive culture to the prognosis of endodontically treated teeth: a clinical study. J Am Dent Assoc. 1963 Jan;66(1):9–13.

17. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. Int Endod J. 2003 Oct 30;30(5):297–306.

18. McFarland J. The Nephelometer:An Instrument For Estimating The Number Of Bacteria In Suspensions Used For Calculating The Opsonic Index And For Vaccines. JAMA J Am Med Assoc. 1907 Oct 5;XLIX(14):1176.

19. Love RM. Enterococcus faecalis - a mechanism for its role in endodontic failure: E. faecalis virulence. Int Endod J. 2001 Jul;34(5):399–405.

20. Zhang C, Du J, Peng Z. Correlation between Enterococcus faecalis and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic Review. J Endod. 2015 Aug;41(8):1207–13.

21. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology. 1998 Jan;85(1):86–93.

22. Sedgley C, Nagel A, Dahlén G, Reit C, Molander A. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of Enterococcus faecalis in root canals. J Endod. 2006 Mar;32(3):173–7.

23. Siqueirajr J, Rocas I, Souto R, Deuzeda M, Colombo A. Actinomyces Species,

Streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. J Endod. 2002 Mar;28(3):168–72.

24. Dufour D, Leung V, Lévesque CM. Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance: Bacterial biofilm. Endod Top. 2010 Mar;22(1):2–16.

25. Donlan RM. Biofilms: Microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis. 2002 Sep;8(9):881–90.

26. Watnick P, Kolter R. Biofilm, city of microbes. J Bacteriol. 2000 May 15;182(10):2675–9.

27. Xu J, Gao Y, Meng Y, Wu W, Tsauo C, Guo T, et al. Mechano-chemical coupling of irrigation enhances endodontic biofilm debridement. Biofouling. 2020 Aug 8;36(7):792–9.

28. Dioguardi M, Gioia GD, Illuzzi G, Laneve E, Cocco A, Troiano G. Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. Eur J Dent. 2018 Jul;12(03):459–66.

29. Basrani B, editor. Endodontic Irrigation: Chemical disinfection of the root canal system. Cham: Springer International Publishing; 2015.

30. Grossman LI. Irrigation of root canals. J Am Dent Assoc. 1943 Dec;30(23):1915–7.

31. Park E, Shen Y, Haapasalo M. Irrigation of the apical root canal: Irrigation of the apical root canal. Endod Top. 2012 Sep;27(1):54–73.

32. Clarke HT. Henry Drysdale Dakin, 1880-1952. J Biol Chem. 1952 Oct;198(2):491–4.

33. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. Br Dent J. 2014 Mar;216(6):299–303.

34. Haapasalo M, Shen Y. Current therapeutic options for endodontic biofilms: Current therapeutic options for endodontic biofilms. Endod Top. 2010 Mar;22(1):79–98.

35. van der Sluis LWM, Vogels MPJM, Verhaagen B, Macedo R, Wesselink PR. Study on the influence of refreshment/activation cycles and irrigants on mechanical cleaning efficiency during ultrasonic activation of the irrigant. J Endod. 2010 Apr;36(4):737–40.

36. Park E. Ultrasonics in endodontics: Ultrasonics in endodontics. Endod Top. 2013 Sep;29(1):125–59.

37. Tardivo D, Pommel L, La Scola B, About I, Camps J. Antibacterial efficiency of passive ultrasonic versus sonic irrigation. Ultrasonic root canal irrigation. Odonto-Stomatol Trop Trop Dent J. 2010 Mar;33(129):29–35.

38. Alves FRF, Almeida BM, Neves MAS, Moreno JO, Rôças IN, Siqueira JF. Disinfecting Oval-shaped Root Canals: Effectiveness of Different Supplementary Approaches. J Endod. 2011 Apr;37(4):496–501.

39. Paiva SSM, Siqueira JF, Rôças IN, Carmo FL, Ferreira DC, Curvelo JAR, et al. Supplementing the Antimicrobial Effects of Chemomechanical Debridement with Either Passive Ultrasonic Irrigation or a Final Rinse with Chlorhexidine: A Clinical Study. J Endod. 2012 Sep;38(9):1202–6.

40. Olivi G, De Moor R, DiVito E, editors. Lasers in endodontics. Cham: Springer International Publishing; 2016.

41. Luke AM, Mathew S, Altawash MM, Madan BM. Lasers: A Review with their applications in oral medicine. J Lasers Med Sci. 2019 Oct 1;10(4):324–9.

42. Saydjari Y, Kuypers T, Gutknecht N. Laser application in dentistry: Irradiation effects of Nd:YAG 1064 nm and diode 810 nm and 980 nm in infected root canals—A Literature overview. BioMed Res Int. 2016;2016:1–10.

43. Olivi G. Laser use in endodontics: Evolution from direct laser irradiation to laser-activated irrigation. J Laser Dent. 2013;21(2):58–71.

44. Sarda RA, Shetty RM, Tamrakar A, Shetty SY. Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy, diode laser, and sodium hypochlorite and their combinations on endodontic pathogens. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2019 Dec;28:265–72.

45. De Meyer S, Meire MA, Coenye T, De Moor RJG. Effect of laser-activated irrigation on biofilms in artificial root canals. Int Endod J. 2017 May;50(5):472–9.

46. Asnaashari M, Ebad LT, Shojaeian S. Comparison of antibacterial effects of 810 and 980- nanometer diode lasers on Enterococcus faecalis in the root canal system-An in vitro

study. LASER Ther. 2016;25(3):209–14.

47. Tokuc M, Ozalp S, Topcuoglu N, Kulekci G. Bactericidal effect of 2780 nm Er,Cr:YSGG laser combined with 940 nm diode laser in Enterococcus faecalis elimination: A comparative study. Photobiomodulation Photomed Laser Surg. 2019 Aug;37(8):489–94.

48. Neelakantan P, Cheng CQ, Mohanraj R, Sriraman P, Subbarao C, Sharma S. Antibiofilm activity of three irrigation protocols activated by ultrasonic, diode laser or Er:YAG laser in vitro. Int Endod J. 2015 Jun;48(6):602–10.

49. Borges CC, Estrela C, Lopes FC, Palma-Dibb RG, Pecora JD, De Araújo Estrela CR, et al. Effect of different diode laser wavelengths on root dentin decontamination infected with Enterococcus faecalis. J Photochem Photobiol B. 2017 Nov;176:1–8.

50. Makkar S, Kaur T, Goel P, Galhotra V, Mohan J, Bala N. An In Vitro Study Comparing the Antimicrobial Efficacy of 0.2% Chitosan, 3% Sodium Hypochlorite, 2% Chlorhexidine against Enterococcus faecalis, Alone and in Conjunction with Diode Laser. Int J Clin Pediatr Dent. 2022 Apr 13;15(1):109–14.

51. Kushwah J, Mishra R, Bhadauria V. Antibacterial Efficacy of Sodium Hypochlorite, Ozonated Water, and 980 nm Diode Laser Used for Disinfection of Root Canal against Enterococcus faecalis: A Microbiological Study. Int J Clin Pediatr Dent. 2021 Mar 31;13(6):694–9.

52. Gutknecht N, Van Gogswaardt D, Conrads G, Apel C, Schubert C, Lampert F. Diode laser radiation and Its bactericidal effect in root canal wall dentin. J Clin Laser Med Surg. 2000 Apr;18(2):57–60.

53. Wen C, Kong Y, Zhao J, Li Y, Yu M, Zeng S, et al. Efficacy of the photon-initiated photoacoustic streaming combined with different solutions on *ENTEROCOCCUS FAECALIS* in the root canals. Microsc Res Tech. 2020 Jun;83(6):647–57.

54. Lukac N, Zadravec J, Gregorcic P, Lukac M, Jezeršek M. Wavelength dependence of photon-induced photoacoustic streaming technique for root canal irrigation. J Biomed Opt. 2016 Jul 11;21(7):075007.

55. Lukač M, Lukač N, Jezeršek M. Characteristics of Bubble Oscillations During Laser-Activated Irrigation of Root Canals and Method of Improvement. Lasers Surg Med. 2020

Nov;52(9):907–15.

56. Su Z, Li Z, Shen Y, Bai Y, Zheng Y, Pan C, et al. Characteristics of the Irrigant Flow in a Simulated Lateral Canal Under Two Typical Laser-Activated Irrigation Regimens. Lasers Surg Med. 2021 Apr;53(4):587–94.

57. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. Cureus. 2020 Mar 13;

58. Ghorbanzadeh A, Bahador A, Sarraf P, Ayar R, Fekrazad R, Asefi S. Ex vivo comparison of antibacterial efficacy of conventional chemomechanical debridement alone and in combination with light-activated disinfection and laser irradiation against Enterococcus faecalis biofilm. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020 Mar;29:101648.

59. Boutsioukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions – irrigants and irrigation methods. Int Endod J. 2022 May;55(S3):588–612.

60. Hendi SS, Shiri M, Poormoradi B, Alikhani MY, Afshar S, Farmani A. Antibacterial Effects of a 940 nm Diode Laser With/ Without Silver Nanoparticles Against *Enterococcus faecalis*. J Lasers Med Sci. 2021 Nov 24;12(1):e73–e73.

61. Olivi G, Olivi M. Different Lasers Used in Endodontics. In: Olivi G, De Moor R, DiVito E, editors. Lasers in Endodontics [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016 [cited 2023 May 16]. p. 83–107. Available from: https://link.springer.com/10.1007/978-3-319-19327-4_5

62. Beer F, Buchmair A, Wernisch J, Georgopoulos A, Moritz A. Comparison of two diode lasers on bactericidity in root canals—an in vitro study. Lasers Med Sci. 2012 Mar;27(2):361–4.

63. Asnaashari M, Asnaashari N. Clinical Application of 810nm Diode Laser and Low Level Laser Therapy for Treating an Endodontic Problem A Case Presentation. J Lasers Med Sci. 2011;2(2):82–6.

64. Hama Gharib DS, Salman RF. Feasibility of the crude extracts of Amorphophallus paeoniifolius and Colocasia esculenta as intracanal medicaments in endodontic therapy in comparison to the 940 nm diode laser: An in vitro antimicrobial study. J Dent Sci. 2023 Jan;18(1):145–56.

11. Anexos

11.1. Anexo 1: Kappa de Cohen

Observador * Experto Crosstabulation

			Experto		
			Ausente	Presente	Total
Observador	Ausente	Count	13	2	15
		% of Total	43.3%	6.7%	50.0%
	Presente	Count	0	15	15
		% of Total	0.0%	50.0%	50.0%
Total		Count	13	17	30
		% of Total	43.3%	56.7%	100.0%

Tabla 4: Tabulación Kappa de Cohen

Symmetric Measures

		Value	Asymptotic Standard Error[a]	Approximate T[b]	Approximate Significance
Measure of Agreement	Kappa	**.867**	.090	4.790	<.001
N of Valid Cases		30			

Tabla 5: Resultado Kappa de Cohen