



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA DE USO
ENDODÓNTICO CON Y SIN FIBRA DE POLÍMERO SOBRE ENTEROCOCCUS
FAECALIS ATCC 29212. IN VITRO

**Línea de investigación:
Biomateriales**

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Silva Elera, Kamila Alejandra

Asesora

García Rupaya, Carmen Rosa
ORCID: 0000-0003-0657-6011

Jurado

Añaños Guevara, Martín Glicerio
Chuna Espinoza, Jorge Dante
Sanchez Leon, Jairo

Lima - Perú

2025

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA DE USO ENDODÓNTICO CON Y SIN FIBRA DE POLÍMERO SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212. IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%	14%	2%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	9%
2	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal Trabajo del estudiante	1%
3	reunionpecuaria2018.inifap.gob.mx Fuente de Internet	<1%
4	repositorio.unfv.edu.pe:8080 Fuente de Internet	<1%
5	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%
6	gresis.osc.int Fuente de Internet	<1%
7	patents.google.com Fuente de Internet	<1%
8	www.anvs.com.br Fuente de Internet	<1%
9	www.mdpi.com Fuente de Internet	<1%
10	revistas.udca.edu.co Fuente de Internet	<1%
11	moam.info Fuente de Internet	<1%



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA DE USO
ENDODÓNTICO CON Y SIN FIBRA DE POLÍMERO SOBRE *ENTEROCOCCUS*
FAECALIS ATCC 29212. IN VITRO

Línea de investigación:

Biomateriales

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Silva Elera, Kamila Alejandra

Asesora

García Rupaya, Carmen Rosa

ORCID: 0000-0003-0657-6011

Jurado

Añaños Guevara, Martín Glicerio

Chuna Espinoza, Jorge Dante

Sanchez Leon, Jairo

Lima – Perú

2025

DEDICATORIA

A mis padres Jorge Silva y Erika Elera, por su inmenso amor a la familia, constante apoyo moral y por su sacrificio laboral para poder culminar este primer e importante paso de mi carrera profesional.

A mi hermano Josue Silva y mis abuelitos, por creer en mí.

A mi ángel, mi tía Carmen Rosa Elera, que desde el cielo cuida de mí y guía mi camino.

¡Gracias de corazón, familia!

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la vida para cumplir uno de mis anhelados objetivos.

A mi asesora, la Dra. Carmen Garcia Rupaya, por la orientación y motivación durante estos arduos meses de esfuerzo académico.

Al Dr. Luis Caffo Geldres, Dr. Sergio Jiménez Sánchez y Mg. TM. Roky Champi Merino, por el constante apoyo y compartirme sus conocimientos.

ÍNDICE

RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Descripción y formulación del problema.....	1
1.2. Antecedentes.....	3
1.3. Objetivos.....	7
1.3.1. <i>Objetivo general</i>	7
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	8
1.4. Justificación.....	8
1.5. Hipótesis.....	9
II. MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	10
2.1.1. <i>Objetivo de la endodoncia</i>	10
2.1.2. <i>Microbiota oral</i>	13
2.1.3. <i>Terapia fotodinámica (TFD)</i>	14
2.1.4. <i>Dispositivos de suministro de entrega de luz</i>	18
III. MÉTODO.....	21
3.1. Tipo de investigación.....	21
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	21
3.3. Variables.....	21
3.3.1. <i>Variable dependiente</i>	21
3.3.2. <i>Variable independiente</i>	21
3.3.3. <i>Operacionalización de las variables</i>	21
3.4. Población y muestra.....	23

3.4.1. Población.....	23
3.4.2. Muestra.....	23
3.4.3. Unidad de análisis.....	24
3.4.4. Muestreo.....	24
3.4.5. Criterios de selección.....	24
3.5. Instrumentos.....	25
3.6. Procedimientos.....	25
3.6.1. Recolección y selección de la muestra.....	25
3.6.2. Preparación de la muestra.....	26
3.6.3. Cultivo de la cepa bacteriana.....	27
3.6.4. Contaminación de las muestras.....	28
3.6.5. Toma inicial de la muestra	28
3.6.6. Aplicación de la terapia fotodinámica.....	29
3.6.7. Aplicación del grupo control.....	30
3.6.8. Toma final de la muestra.....	30
3.6.9. Análisis de cultivo microbiológico inicial y final.....	30
3.6.10. Capacitación de medición.....	31
3.7. Análisis de datos	31
3.8. Consideraciones éticas.....	32
IV.RESULTADOS.....	33
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	36
VI. CONCLUSIONES.....	41
VII. RECOMENDACIONES.....	42
VIII.REFERENCIAS.....	43
IX. ANEXOS.....	51

9.1. Anexo A.....	51
<i>9.1.1. Carta de presentación dirigida al director general del Hospital Nacional Hipólito Unanue.....</i>	<i>51</i>
9.2. Anexo B.....	52
<i>9.2.1. Carta de aprobación del proyecto de tesis por el Comité de Ética en investigación del Hospital Nacional Hipólito Unanue.....</i>	<i>52</i>
9.3. Anexo C.....	53
<i>9.3.1. Carta de autorización de ejecución del proyecto de tesis por el Hospital Nacional Hipólito Unanue.....</i>	<i>53</i>
9.4. Anexo D.....	54
<i>9.4.1. Ficha de recolección de datos.....</i>	<i>54</i>
9.5. Anexo E.....	58
<i>9.5.1. Recolección y selección de la muestra.....</i>	<i>58</i>
9.6. Anexo F.....	59
<i>9.6.1. Preparación de la muestra.....</i>	<i>59</i>
9.7. Anexo G.....	64
<i>9.7.1. Cultivo de la cepa bacteriana.....</i>	<i>64</i>
9.8. Anexo H.....	65
<i>9.8.1. Contaminación de las muestras.....</i>	<i>65</i>
9.9. Anexo I.....	68
<i>9.9.1. Toma inicial de la muestra.....</i>	<i>68</i>
9.10. Anexo J.....	69
<i>9.10.1. Aplicación de la Terapia Fotodinámica.....</i>	<i>69</i>
9.11. Anexo K.....	72
<i>9.11.1. Aplicación del grupo control.....</i>	<i>72</i>

9.12. Anexo L.....	73
9.12.1. <i>Toma final de la muestra</i>	73
9.13. Anexo M.....	74
9.13.1. <i>Análisis de cultivo microbiológico inicial y final</i>	74
9.14. Anexo N.....	77
9.14.1. <i>Constancia de donación de piezas dentarias premolares inferiores de consultorios dentales</i>	77
9.15. Anexo Ñ.....	79
9.15.1. <i>Carta de aprobación del proyecto de tesis por el Comité de Ética de investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal</i>	79
9.16. Anexo O.....	80
9.16.1. <i>Constancia del Término de ejecución experimental en el Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue</i>	80
9.17. Anexo P.....	81
9.17.1. <i>Matriz de consistencia</i>	81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadística comparativa del efecto antibacteriano sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 entre los grupos de estudio TFD+F y TFD+NF.....	33
Tabla 2. Estadística descriptiva del recuento de UFC/ml inicial y final de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 de los grupos de estudio TFD+F, TFD+NF y grupo control.....	33
Tabla 3. Comparación del efecto antibacteriano entre los grupos de estudio TFD+F, TFD+NF y grupo control sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, a través del recuento de UFC/ml inicial y final.....	34

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica (TFD) de uso endodóntico con fibra (TFD+F) y sin fibra de polímero (TFD+NF) sobre *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*) ATCC 29212. **Método:** Se utilizaron treinta premolares inferiores monorradiculares. Previa desinfección con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5.25 %, se seccionaron las coronas para estandarizar la longitud radicular a 15 mm, y luego ser instrumentados. El foramen apical fue sellado con resina compuesta y los conductos radiculares fueron contaminados con *E. faecalis* durante 21 días a 37 °C. Los dientes fueron divididos aleatoriamente en tres grupos; un grupo control positivo y dos grupos experimentales. Grupo 1: TFD+F, grupo 2: TFD+NF y grupo control: NaOCl al 3.5 % con irrigación ultrasónica pasiva (IUP). Se realizó la TFD con longitud de onda de 660 nm, potencia 100 mW, energía de 9 J, fibra de polímero de 200 µm, azul de metileno al 0,005% y tiempos de pre irradiación e irradiación de 5 minutos y 90 segundos, respectivamente. El recuento bacteriano se determinó mediante unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml). **Resultados:** El grupo TFD+F y el grupo TFD+NF no registró una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$). El recuento final de UFC/ml mostró mayor reducción en el grupo control. **Conclusiones:** La terapia fotodinámica de uso endodóntico presenta un potencial efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* independientemente del uso de la fibra de polímero, sin embargo, el grupo sin terapia fotodinámica con el uso de hipoclorito de sodio tuvo una mayor inhibición de crecimiento bacteriano.

Palabras clave: *Enterococcus faecalis*, terapia fotodinámica, fibra de polímero, conductos radiculares, efecto antibacteriano, endodóntico.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial effect of photodynamic therapy for endodontic use with fiber (PDT+F) and without polymer fiber (PDT+NF) on *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC 29212. **Method:** Thirty monoradicular lower premolars were used. After disinfection with 5.25% sodium hypochlorite (NaOCl), the crowns were sectioned to standardize the root length to 15 mm, and then be instrumented. The apical foramen was sealed with composite resin and the root canals were contaminated with *E. faecalis* for 21 days at 37 °C. The teeth were randomly divided into three groups; a positive control group and two experimental groups. Group 1: PDT+F; group 2: PDT+NF and control group: 3.5 % NaOCl with passive ultrasonic irrigation (PUI). PDT was performed with wavelength of 660 nm, power 100 mW, energy of 9 J, polymer fiber of 200 µm, methylene blue at 0.005% and pre irradiation and irradiation times of 5 minutes and 90 seconds, respectively. Bacterial count was determined by colony-forming units per milliliter (CFU/ml). **Results:** The PDT+F group and the PDT+NF group did not register a statistically significant difference ($p > 0.05$). The final CFU/ml count showed a greater reduction in the control group. **Conclusions:** Photodynamic therapy for endodontic use has a potential antibacterial effect on *Enterococcus faecalis* regardless of the use of polymer fiber, however, the group without photodynamic therapy with the use of sodium hypochlorite had greater inhibition of bacterial growth.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, photodynamic therapy, polymer fiber, root canals, antibacterial effect, endodontic.

I. INTRODUCCIÓN

El *Enterococcus faecalis* es un microorganismo bacteriano de forma cocoide, la cual se aísla en modo de biopelícula, es decir, forman una cadena de células con capacidad de sobrevivir ante condiciones ambientales desfavorables. (Siddiqui et al., 2013)

En el área de endodoncia, la desinfección de los conductos radiculares a través del empleo de soluciones químicas e instrumentos mecánicos, es uno de los objetivos principales para no fracasar en el tratamiento. Por lo que su éxito depende de la mayor eliminación de aquellos microorganismos patógenos que persisten en las profundidades radiculares. (Estrela et al., 2014; Neelakantan et al., 2017)

La búsqueda de terapias alternativas y/o complementarias al tratamiento endodóntico también es necesaria para optimizar la disminución bacteriana en el interior de los conductos radiculares, entre las cuales se encuentra el novedoso uso de los sistemas láser mediante la aplicación de la Terapia fotodinámica (TFD), conocida también como desinfección fotoactivada. (Moreira et al., 2021)

La terapia fotodinámica es un tratamiento terapéutico que se basa en la interacción de un colorante no tóxico llamado fotosensibilizador que produce tinción sobre las células bacterianas para inmediato absorber la luz emitida por un láser de baja potencia; produciendo un efecto fotoquímico con formación de moléculas de oxígeno reactivas. Este proceso desencadena la muerte de la bacteria patógena. (Dougherty et al., 1998; Konopka y Goslinski, 2007)

1.1. Descripción y formulación del problema

En endodoncia se emplean instrumentos mecánicos y soluciones químicas encargadas de la desinfección de conductos radiculares, tales como el gluconato de Clorhexidina al 2%, algunos desmineralizantes como el ácido etilendiaminotetraacético al 17%; y el hipoclorito de sodio en concentraciones entre 0.5 al 5.25%, que hasta la actualidad es considerado el gold

estándar, por ser la única solución capaz de disolver tejido orgánico vital y necrótico, y actividad bactericida. Sin embargo, se ha demostrado su insuficiente accionar través de un inadecuado control de microorganismos presentes en infecciones pulpares. (Zehnder, 2006)

Es por ello, que la persistencia de microorganismos patógenos que no han logrado ser eliminados de los conductos radiculares, se refiere como la principal razón que conlleva al fracaso del tratamiento endodóntico. (Alghamdi y Shakir, s. f.; et al., 2020; Neelakantan et al., 2017)

Estudios indican la alta prevalencia de la bacteria Gram-positiva *Enterococcus faecalis* en infecciones periapicales después del tratamiento de endodoncia, debido a su capacidad molecular de formar biopelículas adheridas entre sí, resistentes ante cambios térmicos, químicos y físicos. (Portenier et al., 2003; Afkhami et al., 2020)

Con la finalidad de mejorar la disminución de carga bacteriana el interior de los conductos radiculares, se han propuesto terapias alternativas y/o complementarias al tratamiento de endodoncia convencional, como la Terapia fotodinámica, que se emplea a través del uso del láser de baja potencia. (Carlesi et al., 2023; Sante et al., 2023; Torres et al., 2022)

Diversos trabajos de investigación han demostrado la eficiencia antimicrobiana de la Terapia fotodinámica en conductos radiculares contaminados con "*Enterococcus faecalis*", empleando emisiones láser de luz roja visible de baja potencia asociado a un fotosensibilizador. (Trinidad et al., 2015; Torres et al., 2022)

Además, investigaciones refieren mayores resultados cuando se le acopla al láser una fibra. La fibra es un dispositivo flexible difusor de energía que funciona como un sistema de entrega de luz que facilita su ingreso al interior del conducto radicular, aumentando la velocidad e intensidad del efecto fotoquímico hacia las moléculas fotosensibilizadas que están en contacto con las células bacterianas, provocando así la muerte de la bacteria. (Garcez et al., 2013)

El protocolo clínico de la TFD, sugiere el uso de la fibra considerando ciertos parámetros, tales como: Fuente de luz, la densidad, potencia, tiempo de pre irradiación e irradiación, siendo el tiempo empleado suficiente para su difusión sobre la célula objetivo, el tipo y concentración del fotosensibilizador aplicado. (Nunes et al., 2011)

Por tal motivo, el propósito del presente estudio fue evaluar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

De acuerdo a lo anterior mencionado, se formula la siguiente pregunta:

¿Cuál es el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

1.2. Antecedentes

Teocrito Carlesi et al. (2023) en Italia, evaluaron la acción antibacteriana del ácido aminolevulínico al 5% (ALAD) y luz roja sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en conductos radiculares infectados utilizando una fibra intracanal in vitro. Se seccionaron a nivel coronal setenta dientes unirradiculares, y luego se instrumentaron. Los conductos radiculares se infectaron durante ocho días. Las raíces se dividieron en: Grupo 1-ALAD, grupo 2- TFD (Terapia Fotodinámica), grupo 3- ALAD+TFD, grupo 4-Hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2,5%, grupo 5-NaOCl al 1%, grupo 6-control positivo (sólo inoculado con *E. faecalis*), grupo 7-control negativo (muestra no inoculada). Se realizó la TFD con láser de diodo de luz roja visible de 635 nm, potencia de 50 mW, además a este dispositivo se le asoció una fibra de sílice, con un diámetro de 187.5 μm y un tiempo de irradiación de 7 minutos. Luego, se realizó la toma de muestra para determinar el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) y la viabilidad celular fue mediante microscopía fluorescente. La mayor muerte bacteriana lo demostró el grupo 4, seguido del grupo 3 con una diferencia significativa con el grupo 5. El

estudio muestra la eficacia antibacteriana del ALAD combinado TFD en conductos radiculares infectados con *E. faecalis*

Margarita Sante et al. (2023) en Perú, evaluó la efectividad de la terapia fotodinámica (TFD) contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, aplicando 3 tiempos de pre irradiación. Se prepararon cuarenta premolares humanos, y luego se inocularon con la cepa bacteriana por 21 días a 37°C. Se dividieron en: Grupo 1-TFD con irradiación de 1 minuto, grupo 2- TFD con irradiación de 3 minutos, grupo 3- TFD con irradiación de 5 minutos y grupo control- irrigación con cloruro de sodio al 0,9%. Se realizó la TFD en los grupos experimentales con los siguientes parámetros: longitud de onda 660 nm, energía 9J, azul de metileno al 0,005% usando una fibra de 200 µm dentro del conducto radicular y efectuando movimientos helicoidales con pre irradiación a 1, 3 y 5 minutos. El estudio demostró que la TFD fue significativamente efectiva independientemente de los 3 tiempos de pre irradiación.

Torres et al. (2022) en Perú, evaluaron la acción antibacteriana del láser rojo utilizando azul de metileno y verde de malaquita contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en un estudio in vitro. Treinta premolares humanos fueron preparados y luego contaminados con *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Las raíces se dividieron en tres grupos (n=10): Grupo 1- láser rojo (LS) con azul de metileno al 0.005%, grupo 2: LS con verde de malaquita al 0.005%, y grupo control: ningún tratamiento. Se realizó la Terapia Fotodinámica (TFD) con el equipo de láser Therapy XT de luz roja visible de 660 nm, con los siguientes parámetros: potencia de 100 mW, dosis de 320 J/cm² y 9 J de energía, además este dispositivo se asoció a un Tip con una punta de 200 µm de diámetro, pre irradiando 5 minutos e irradiando 90 segundos. Para el análisis de empleó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) utilizando el método de recuento en placa. La desinfección fue significativamente mayor en el grupo 1 con 530 ± 581,3 UFC/ml que la del grupo 2 con 1990 ± 542,5 UFC/ml. El estudio in vitro muestra

que la TFD asociada a los dos fotosensibilizadores obtuvo un efecto antibacteriano significativo contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Abu Hasna et al. (2020) en Brasil, evaluaron la efectividad de la N-acetilcisteína (NAC) como medicación intracanal, la terapia fotodinámica (TFD) y la NAC combinada con TFD para la eliminación de *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Ochenta dientes humanos unirradiculares recientemente extraídos fueron preparados y luego contaminados con *E. faecalis* ATCC 29212. Los dientes se dividieron aleatoriamente en cinco grupos (n=16): Hidróxido de calcio (CH); NAC; TFD; NAC + TFD, y el grupo control solución salina. Se realizó la TFD con láser 660 nm, potencia 40 mW, densidad 120J/cm², además este dispositivo se asoció a una punta óptica de 400 μm de diámetro colocándolo al interior del conducto radicular, utilizando un movimiento helicoidal de apical a cervical para activar al azul de metileno (AM) al 0.005%, pre irradiando 5 minutos e irradiando 2 minutos. Se prepararon diez muestras de cada grupo para el análisis de cultivo microbiológico mediante conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) inoculando *E. faecalis* por 21 días; las otras seis muestras de cada grupo se prepararon para microscopía electrónica de barrido y microscopía de barrido láser confocal, y se contaminaron por 5 días. La toma de la muestra fue en tres tiempos: después de 21 días de contaminación, inmediato a la instrumentación y 14 días después de la aplicación de grupos experimentales. El análisis de UFC/ml mostró que CH, NAC y NAC + TFD promovieron una mayor actividad antibacteriana con una diferencia estadísticamente significativa en comparación con la solución salina y la TFD (P <0,0001). La NAC fue bactericida contra las biopelículas de *E. faecalis* independientemente de la estimulación con TFD.

De Vasconcelos Neves et al. (2020) en Brasil, evaluaron el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica combinada con 3 protocolos de irrigación para la eliminación de *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), in vitro. Noventa premolares humanos unirradiculares

fueron preparados y contaminados con cultivo de *E. faecalis* durante 4 días. Los dientes se dividieron de manera aleatoria en grupo: terapia fotodinámica (TFD), hipoclorito de sodio (NaOCl) + TFD, irrigación ultrasónica pasiva (IUP) + TFD, sistema rotatorio XP ENDO FINISHER + TFD, control positivo-NaOCl al 2.5%, control negativo-sin tratamiento. Se realizó la TFD con láser de diodo Therapy XT de luz roja visible de 660 nm, potencia de 100 mW y energía 9 J, además se asoció a una fibra mediante movimientos helicoidales apico-cervicales dentro del conducto radicular y aplicando previamente el AM al 0,005%, pre irradiando 5 minutos e irradiando 90 segundos. Se utilizó el conteo de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) para el análisis microbiológico. El grupo Sistema rotatorio XP Endo finisher + TFD fue el que presentó el mayor porcentaje de inhibición (100 %), seguido de NaOCl+TFD (65,85 %). La TFD coadyuvada con los diferentes protocolos de irrigación final fue más efectiva contra *E. faecalis* que la TFD sola.

Asnaashari et al. (2022) en Irán, evaluaron la activación ultrasónica sobre la eficacia de la terapia fotodinámica (TFD) contra *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) y la profundidad de penetración del fotosensibilizador azul de metileno (AM). Se seccionaron las coronas de cincuenta y ocho incisivos inferiores humanos, para luego prepararlos y contaminarlos con *E. faecalis* ATCC 29212. Las raíces se dividieron de manera aleatoria en: Grupo 1- Activación ultrasónica+ hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5.25%, grupo 2- TFD, grupo 3- Activación ultrasónica + TFD y grupo control positivo (muestras inoculadas con *E. faecalis*). Se realizó la TFD con láser 660 nm, potencia 150 mW, energía 7.2 J, densidad de energía 16.2J/cm² y densidad de potencia 0,27 w/cm², además se asoció una punta difusora tridimensional de 200 µm de diámetro para activar al AM de 25 µg/ml, pre irradiando 5 minutos e irradiando 1 minuto. Se realizó el análisis microbiológico contabilizando las unidades formadoras de colonias y ensayo de viabilidad microbiana. Para evaluar la profundidad de penetración del AM, se utilizó microscopio estereoscópico. La reducción de recuento bacteriano en la región

apical y coronal fue más efectiva en el grupo 1 y 3, que el grupo 2, además hubo diferencia significativa entre los grupos experimentales y el control. Con respecto a la profundidad de penetración de AM el grupo 3 fue significativamente mayor que el grupo 2. La activación ultrasónica del fotosensibilizador en TFD aumenta la profundidad de penetración del AM en los túbulos dentinarios y mejora su actividad antibacteriana.

Sarda et al. (2019) en India, evaluaron la actividad antimicrobiana del láser diodo, terapia fotodinámica (TFD), e hipoclorito de sodio (NaOCl) y sus combinaciones contra *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) y *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Se seccionaron las coronas de ciento veinte dientes unirradiculares, luego se prepararon para ser divididos aleatoriamente en dos grupos con sesenta dientes cada uno, siendo inoculados con *E. faecalis* y con *S. mutans*. Luego se subdividieron en 10 dientes cada grupo, según la técnica de desinfección: Grupo 1- desinfección con láser de diodo de 980 nm, potencia 1,5 watts (W) asociado a una fibra óptica (FO), grupo 2- TFD, grupo 3- NaOCl al 3%, grupo 4 - NaOCl al 3% + láser de diodo de 980 nm, grupo 5 - NaOCl al 3% + TFD, grupo control - ningún tratamiento. Se realizó la TFD con el equipo de láser diodo de luz roja visible de 660 nm, potencia de 2 W, energía de 10 joules, además se asoció una fibra óptica flexible de 500 µm de diámetro, aplicando el fotosensibilizador azul de metileno a 25 µg/ml (67 µM), pre irradiando 5 minutos e irradiando con intervalo de 20 segundos. El análisis microbiológico a través del recuento de unidades formadoras de colonias indicó una reducción significativa del 98% en el grupo 4 y 5. Por lo tanto, las terapias combinadas con la TFD son buenas alternativas para mejorar desinfección de conductos radiculares contra *E. faecalis* y *S. mutans*.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.3.2. *Objetivos específicos*

- Determinar el recuento de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) inicial y final del grupo terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero, grupo terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero y grupo control.
- Comparar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero, terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero y grupo control sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a través del recuento de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) inicial y final.

1.4. **Justificación**

La prevalencia de microorganismos patógenos en los conductos radiculares es uno de los factores que puede conducir al fracaso del tratamiento de endodoncia. Por tal motivo, el presente estudio se justifica porque buscará aumentar la evidencia acerca de métodos de desinfección antimicrobiana alternativas a la convencional a través de la terapia fotodinámica aplicada en conductos radiculares contaminados con *Enterococcus faecalis*, bacteria Gram positiva asociada a infecciones endodónticas secundarias.

Bajo este contexto, se hace necesario esclarecer el uso de la fibra en el área de endodoncia respetando el protocolo clínico de la TFD, ya que sugiere su empleo con el fin de obtener una mayor tasa de éxito en la reducción y/o eliminación de carga bacteriana en los conductos radiculares. Además, a nivel nacional los estudios relacionados a esta problemática son escasos.

En la práctica, a través de la implementación de los parámetros de la terapia fotodinámica, facilitará a los odontólogos generales y especialistas en endodoncia a establecer un protocolo clínico en láser que se diferencie de lo convencional y sea más efectivo contra microorganismos multiresistentes como el *Enterococcus faecalis*, además de reducir el tiempo de ejecución del tratamiento.

En lo social, otorgará beneficio a los pacientes quienes reciben el tratamiento endodóntico, garantizando el éxito en periodos a corto, mediano y/o largo plazo, con la finalidad de no necesitar de un retratamiento, o por último que ocurra la pérdida dentaria.

En lo metodológico, se justifica por la aplicación de un método científico con diseño experimental, de tipo prospectivo longitudinal, y enfoque cuantitativo de investigación, el cuál es el más idóneo para la obtención de resultados confiables.

1.5. Hipótesis

Existe diferencia significativa en el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Objetivo de la endodoncia*

El objetivo principal de un tratamiento endodóntico es la desinfección quimiomecánica óptima del conducto radicular, que se logra a través de la eliminación de restos vitales y necróticos del tejido pulpar, barrillo dentinario, y microorganismos, mediante el uso de agentes irrigadores proteolíticos con sus mecanismos de activación, agentes desmineralizantes, antisépticos y medicamentos intracanal. (Estrela et al., 2014)

2.1.1.1. Sistemas de irrigación convencionales o manuales. Los agentes irrigadores son soluciones encargadas de la desinfección química de conductos radiculares. Un agente irrigador ideal debería cumplir ciertas propiedades, como: Amplio espectro antimicrobiano, capacidad de disolver restos de tejido pulpar vital, necrótico y barrillo dentinario, efecto bactericida contra microorganismos anaerobios y facultativos e inactivación de endotoxinas. De todas las sustancias utilizadas en endodoncia, se destaca la acción del hipoclorito de sodio (NaOCl) en concentraciones entre 0.5 - 5.25% como el gold estándar. (Zehnder, 2006)

El NaOCl es la solución irrigante más usada debido a su efecto antimicrobiano por su elevado ph (12.5), alta capacidad de disolver tejido pulpar orgánico y compatibilidad biológica aceptable en concentraciones más bajas. (Estrela et al., 2002)

2.1.1.2. Sistemas de irrigación mecánica. Dentro de los sistemas más efectivos para el desarrollo de agitación mecánica de soluciones irrigantes dentro de los conductos radiculares encontramos a la irrigación ultrasónica, la cual es un sistema asistido por máquina empleado para la instrumentación y desinfección en endodoncia, y se clasifica en 2 tipos: Irrigación ultrasónica simultánea con la preparación biomecánica del conducto (IU) e irrigación ultrasónica pasiva. (Mozo et al., 2012)

La irrigación ultrasónica (IU), trata de la transmisión de energía acústica a través de una lima que ingresa a 2 a 3 mm antes de la longitud de trabajo y que oscila en sentido transversal, y a la vez contacta con el irrigante de capacidad disolvente. Adicional, esta función es simultánea a la a la instrumentación, es decir, corta la dentina de las paredes del conducto radicular. Esta irrigación no es tan empleada debido a los efectos de su acción de corte incontrolado, el cual podría producir perforaciones apicales y desviaciones del conducto radicular. (Boutsioukis y Arias-Moliz, 2022)

La irrigación ultrasónica pasiva (IUP), presenta el mismo concepto de la IU, con la diferencia del término “pasivo”, el cual hace referencia a la acción no cortante de la lima, además este tipo de irrigación no es simultánea a la instrumentación del conducto radicular. La energía transmitida está relacionada con 2 fenómenos: la corriente acústica (movimiento circular rápido del fluido) y la cavitación del irrigante (burbujas de vapor en un líquido), donde se evidencia una mayor efectividad de estos fenómenos en una IUP que en una IU. (van der Sluis et al., 2007)

2.1.1.3. Factores asociados al fracaso endodóntico. A pesar del uso exhaustivo de agentes irrigadores, existen factores habituales que pueden conllevar a un fracaso de tratamiento endodóntico, tales como: resistencia de cepa bacteriana a los antibióticos, mala calidad de obturación, sellado coronal inadecuado, instrumentos rotatorios fracturados, conductos no tratados, estructura anatómica compleja radicular, inaccesibilidad del irrigante a los túbulos dentinarios. Pero es la persistencia de microorganismos en la infección perirradicular, la principal causa del fracaso endodóntico, lo que resulta difícil su erradicación sólo a través de estos. (Tabassum y Khan, 2016)

La persistencia bacteriana no siempre mantendrá activo a un proceso infeccioso como lo es la periodontitis apical, ya que existe evidencia de que después de haber culminado el tratamiento endodóntico con signos de cicatrización apical, a través de la desinfección

quimiomecánico o medicación intraconducto, estas bacterias residuales permanecen en áreas como los túbulos dentinarios de la región apical, conductos accesorios, irregularidades e istmos. Esto responde a la posibilidad de muerte bacteriana por efecto del material de obturación, inaccesibilidad hacia los tejidos perirradiculares y nutrientes, interrupción del biofilm, baja virulencia. De lo contrario, si las bacterias sobreviven puede resultar afectado el éxito del tratamiento. (Siqueira y Rôças, 2008)

2.1.1.4. Clasificación de las infecciones endodónticas. Se pueden clasificar en tres categorías según su localización y el tiempo en que los microorganismos ingresan a la entrada del conducto radicular: La infección endodóntica intrarradicular primaria se define como la infección de todo el conducto radicular hasta los tejidos de soporte (periodontitis apical). Se encuentra colonizada por lo general entre 3-6 especies bacterianas anaerobias mixtas por conducto, en lo particular por gram-negativas del género *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Campylobacter* y también gram-positivas del género *Peptostreptococcus*, *Eusobacterium* y *Pseudoramibacter*. (Siqueira y Rôças, 2005 pp.488-489; Neelakantan et al., 2017)

La infección endodóntica intrarradicular secundaria/persistente es causada por microorganismos que intervienen de manera secundaria a pesar del tratamiento de desbridamiento químico-mecánico, siendo responsables de generar problemas clínicos como exudación persistente del conducto radicular, persistencia de lesiones perirradiculares. Se encuentra colonizada por lo general por 1-2 especies bacterianas, en su mayoría por anaerobias facultativos gram-positivos, tales como: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces* y *Enterococcus*; siendo el *Enterococcus faecalis* la bacteria con mayor predominio dentro de este grupo. También podemos encontrar hongos como *Cándida albicans* en mayor número que en la infección primaria. (Siqueira y Rôças, 2005, pp.488-489; Wong et al., 2021)

La infección endodóntica extrarradicular es causada por microorganismos que se encuentran en el tejido inflamado perirradicular con potencial para sobrevivir, pudiendo ser provocada por una infección intrarradicular. Se encuentran especies bacterianas gram-negativas tales como el género *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Campylobacter* y *Treponema*; además de anaerobias gram-positivas como *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Peptostreptococcus*, *Eusobacterium*. (Siqueira y Rôças, 2005, p. 493)

2.1.2. Microbiota oral

La biopelícula bacteriana o biofilm es el conjunto de comunidades dinámicas de células sésiles bacterianas que interactúan entre sí y están adheridas a una superficie sólida de sustancias extracelulares ricas en nutrientes, con la capacidad de ser multiresistentes a cambios ambientales hostiles. (Narayanan y Vaishnavi, 2010)

Donlan y Costerton (2002) definen al biofilm como una: “Comunidad sésil derivada de microbios caracterizada por células que están unidas irreversiblemente a un sustrato o interfaz o entre sí, están incrustadas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que han producido y exhiben un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción de genes”

La microbiota oral endodóntica varía conforme avanza la enfermedad infecciosa, y depende de la tensión de oxígeno, uso de agentes químicos irrigadores, cambios del pH y disponibilidad de nutrientes dentro del sistema de conducto radicular. Por lo que la resistencia al tratamiento endodóntico sólo ocurrirá si poseen capacidad de patogenicidad, incrementan el número de colonias u obtienen acceso a los tejidos perirradiculares. (Neelakantan et al., 2017; Siqueira Jr, 2001)

2.1.2.1. *Enterococcus faecalis*. “*Enterococcus*” es un coco gram-positivo anaerobio facultativo que encontramos en la microbiota oral, gastrointestinal y genitourinario. Su

crecimiento óptimo es a 35°C, además es resistente a temperaturas entre 10- 60°C. (Baghdayan et al., 2003; Portenier et al., 2003)

La especie *Enterococcus faecalis* es la más comúnmente aislada en infecciones endodónticas asociada a periodontitis apical crónica o tratamiento endodóntico previo, aunque también puede encontrarse con menor frecuencia en infecciones primarias o agudas. (Portenier et al., 2003)

Esto se debe a la resistencia de este microorganismo ante la acción de irrigantes y medicamentos antimicrobianos empleados durante la preparación químico-mecánica en el tratamiento endodóntico convencional, tales como: hipoclorito de sodio, clorhexidina, hidróxido de calcio, paramonoclorofenol alcanforado. (Afkhami et al., 2020)

Moreira et al. (2021) refieren que la presencia de nutrientes en las paredes profundas y túbulos dentinarios favorece el crecimiento de esta especie durante y después del tratamiento endodóntico.

Por esta razón es de importancia realizar investigaciones acerca de terapias alternativas y/o complementarias al tratamiento convencional para optimizar la disminución de unidades bacterianas en los conductos radiculares.

2.1.3. Terapia fotodinámica (TFD)

La TFD es un procedimiento no invasivo con fines terapéuticos, en el cual ocurre una interacción entre la luz emitida y las moléculas fotosensibilizadas para la destrucción de células patológicas y/o microorganismos patógenos. (Dougherty et al., 1998; Allison y Sibata, 2010)

2.1.3.1. Historia de la TFD. El descubrimiento de la terapia fotodinámica fue dado en 1900 por Oscar Rabb y su profesor Herman von Tappeiner, quienes acuñaron el término “efecto fotoquímico” al observar la reacción letal entre la luz visible y el agente fotosensibilizador rojo de acridina contra *Paramecia caudatum*, un protozoo causante de malaria. (Ackroyd et al., 2001; Allison y Sibata, 2010)

Las primeras aprobaciones de la aplicación de la TFD con Photofrin (fotosensibilizador derivado de la hematoporfirina), se obtuvieron desde el año 1993 en algunos países bajos y de Europa para pacientes con cáncer de cabeza y cuello, tracto respiratorio, tracto digestivo y tracto genitourinario en estadio temprano y avanzado. (Dougherty et al., 1998)

En 1928, las investigaciones de la terapia fotodinámica contra los microorganismos fueron disminuyendo debido a la llegada de los antibióticos. (Santezi et al., 2018)

Sin embargo, entre las décadas de los 80 y 90, se hace popular el aumento de la resistencia bacteriana ante los antibióticos. Por ello, los investigadores tomaron nuevamente interés por los primeros estudios de la terapia fotodinámica. (Oliveira et al., 2014)

A partir del estudio de Dougherty, fue aplicada en tratamiento de cáncer en piel, cabeza, cuello, pulmonar, pleural, gastrointestinal, vesicular, uterino, degeneración macular y tumores intracraneales. (Huang, 2005)

2.1.3.2. Aplicaciones clínicas en odontología. La TFD se ha aplicado en otras áreas de odontología, tales como: periodoncia (tratamiento de bolsas periodontales), odontología restauradora (lesiones cariosas profundas, eliminación de resinas compuestas, restauraciones con ionómero de vidrio, grabación la estructura dental), implantología (sitios de periimplantitis), así como también en el tratamiento de tumores malignos en mucosa oral. (Lee et al., 2004, p.95)

2.1.3.3. Aplicación clínica en endodoncia. La terapia fotodinámica ha demostrado efectividad contra cepas microbianas multiresistentes a los antibióticos, así como en la eliminación de biopelículas complejas y organizadas. (L. J. Walsh, 2003; Plotino et al., 2019)

Se ha demostrado su éxito en casos de periodontitis apical crónica, donde es común observar signos de radiolucidez radiológica e invasión bacteriana que por lo general es persistente ante una primera intervención. (Stájer et al., 2020)

2.1.3.4. Mecanismo de acción de la TFD. El tratamiento consiste en la introducción de un fotosensibilizador (tinte no tóxico) al interior del conducto radicular el cuál se irá adhiriendo de manera selectiva a las células bacterianas y no a las células humanas, y la emisión de luz láser visible a una determinada longitud de onda. (Lee et al., 2004, pp.93-94)

La absorción de luz se da a través de la interacción entre la longitud de onda emitida y el fotosensibilizador, esto conduciría a la producción de un estado de triplete de larga duración que al tener contacto con el oxígeno molecular encontrado en el interior del conducto radicular generarían especies reactivas de oxígeno (ROS) (superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales de hidroxilo) y oxígeno singlete, las cuáles conducirán al daño celular bacteriano. (García-Díaz et al., 2016)

Dichas especies reactivas de oxígeno (ROS) se producirían a través de dos mecanismos del fotosensibilizador en estado de triplete: Reacción Tipo I implica la transferencia de electrones produciendo la formación de radicales libres, los cuáles van a reaccionar con la molécula de O₂ para finalmente producir ROS y Reacción Tipo II donde se produce el oxígeno singlete. (Konopka y Goslinski, 2007)

2.1.3.5. Componentes principales de la TFD. Los componentes principales involucrados en la TFD, incluye la luz visible adecuada a una longitud de onda específica y presencia del fotosensibilizador. (Agostinis et al., 2011)

A. Luz visible. Es de importancia el fenómeno de absorción (la luz se refleja, dispersa o transmite) para que ocurra el efecto fotoquímico, el cual se da a través de dos principios: Primero, el fotosensibilizador debe absorber la energía, esto se logra siempre y cuando la longitud de onda sea compatible con el espectro de absorción del fotosensibilizador. Segundo, la luz debe ser capaz de penetrar el tejido objetivo. (McCaughan, 1999)

Si bien la cantidad de luz absorbida es determinada por el espectro de absorción, también influyen la potencia de la fuente que emite la luz, las propiedades ópticas y térmicas del tejido, y las sustancias cromóforas como hemoglobina y agua. (Jurič y Anić, 2014)

Las longitudes de onda utilizadas en la TFD oscilan para la luz visible entre 390 nm (violeta) a 630-700 nm (roja). (McCaughan, 1999)

B. Fotosensibilizador (FS). Los fotosensibilizadores son moléculas capaces de transferir energía a otra molécula y producir efectos fotoquímicos. (Konopka y Goslinski, 2007, p.695)

Según Ackroyd et al. (2001) : “Un FS ideal debe ser biológicamente estable, fotoquímicamente eficiente, retenido selectivamente en el tejido objetivo en relación con el tejido normal circundante y debe tener una toxicidad mínima que no sea el área tratada”.

En la TFD se emplean fotosensibilizadores compatibles con longitudes de onda que oscilan entre 630 - 700 nm, las cuales corresponden a una profundidad de penetración en el tejido de 0.5 (630 nm) a 1.5 cm (700 nm) para producir el efecto terapéutico. Las longitudes de onda menores a 600 nm no penetran el tejido, y mayores a 850 nm no producen suficiente energía para generar especies reactivas de oxígeno. (Biel, 2002; Chilakamarthi y Giribabu, 2017)

Existen varios fotosensibilizadores aplicados para terapia fotodinámica, como los derivados de la hematoporfirina y algunos sintéticos, las fenotiazinas, cianinas, agentes fitoterapéuticos, ftalocianinas y cloros, sin embargo, algunos de estos ya no se usan porque poseen propiedades como la falta de especificidad debido a la absorción máxima a longitud de onda corta, baja solubilidad, y fototoxicidad. (Kwiatkowski et al., 2018)

Es por ello que surgieron fotosensibilizadores con una mejoría en la producción de oxígeno singlete y penetración del tejido, como las pertenecientes al grupo de las fenotiazinas y sus derivados. (Gursoy et al., 2013)

Dentro del grupo de las fenotiazinas encontramos al azul de metileno y azul de toluidina, estos presentan una absorción máxima de 600 - 660 nm, lo que los hace compatible con la fuente de luz de espectro rojo. (Nagata et al., 2012)

Debido a su naturaleza anfifílica, es decir, ambos poseen carácter hidrofílico e hidrófobo, son muy efectivos contra la inactivación de bacterias Gram negativas y positivas como el *Enterococcus faecalis*. (Plotino et al., 2019, p. 762)

El azul de metileno al ser hidrofílico con bajo peso molecular y carga positiva, tiene la capacidad de atravesar la membrana externa de Gram positivas a través de los canales de proteínas porinas. (Usacheva et al., 2003)

2.1.3.6. Fuentes de luz aplicadas en la TFD. Las primeras fuentes de luz fueron las lámparas de arco convencionales y fluorescentes, que emitían luz no coherente. Éstas producían una longitud de onda que les permitía adaptarse al fotosensibilizador asociado, pero se dejaron de usar producto del alto efecto térmico. (Huang, 2005, p.284)

En la actualidad, las fuentes de luz más utilizadas son los láseres, los cuáles emiten luz monocromática y coherente, en especial los láseres de diodo son utilizados para terapia fotodinámica clínica por su bajo costo, portabilidad y fácil manejo. (Huang, 2005, p.285)

En TFD se utilizan láseres de diodo con longitudes de onda entre 415 a 690 nm, aplicando una baja potencia expresada en miliwatts ya que no perjudica a los tejidos periapicales ante cambios térmicos a diferencia de los diodos de alta potencia. (Kim y Darafsheh, 2020, pp.281,283)

2.1.4. Dispositivos de suministro de entrega de luz

Adicional al uso de fuentes de luz, existen dispositivos de suministro de entrega que permiten mejorar el ingreso de la profundidad de la luz hacia el tejido objetivo del tratamiento. (Torres et al., 2022; Sante et al., 2023)

Los dispositivos de entrega se clasifican en 3 grupos, según el modo de administración de luz: sin contacto, de contacto e intersticial. Las fibras ópticas pertenecen a este último grupo y se consideran como el componente principal de los sistemas de suministro de luz flexible. (Finlay y Darafsheh, 2016)

2.1.4.1 Fibra óptica. Es un dispositivo guiador de ondas que acoplado a una fuente de luz permite administrar la irradiación a las regiones deseadas, sin necesidad de distribuirse hacia un solo camino. (Zhu y Finlay, 2008)

Las fibras ópticas convencionales están compuestas por dos cilindros dieléctricos coaxiales: un núcleo y un revestimiento, que en su mayoría están cubiertas por doble capa protectora, una interna que cubre el revestimiento; y una externa cubriendo a la fibra. (Finlay y Darafsheh, 2016, p.317)

Los materiales comunes de las fibras ópticas utilizados en el ámbito de medicina y terapéutica láser incluyen a los vidrios a base de silicatos y diversos plásticos y polímeros, como el polimetilmetacrilato para transmisión de luz visible e infrarroja. (Wang y Chocat, 2010, p.385)

Las fibras de polímero en comparación con las de sílice presentan ventaja debido a su alta tenacidad a la fractura y alta flexibilidad al doblarse. (Kim y Darafsheh, 2020)

En endodoncia, el uso de la fibra denominada también como Tip al ser acoplada a un láser ofrece una distribución uniforme de luz pudiendo llegar al tercio apical y zonas de difícil acceso de los conductos radiculares, garantizando la eliminación adecuada de microorganismos en su interior. (Oliveira et al., 2014)

Se ha demostrado el éxito de la fibra de polímero a base de polimetilmetacrilato con diámetros que oscilan entre 200 a 250 μm aplicada en la terapia fotodinámica endodóntica, para establecer una iluminación uniforme de 360° dentro de los conductos radiculares, siempre

y cuando se optimicen los parámetros, especialmente la fuente de luz empleada y la fluencia de energía o potencia. (Fimple et al., 2008)

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

Prospectivo, longitudinal, comparativo

Enfoque cuantitativo

Diseño Experimental

3.2. Ámbito temporal y espacial

El procedimiento de preparación y desinfección de muestra se llevó a cabo en la Clínica de Endodoncia en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV); y el cultivo, siembra y conteo bacteriano de UFC/ml en el servicio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU) durante el mes de Abril a Diciembre del 2024, y para lo cual se obtuvieron permisos administrativos. (Anexo A, B y C)

3.3. Variables

3.3.1. Variable dependiente

Efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico.

3.3.2. Variable independiente

Técnicas de desinfección en conductos radiculares:

Terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero.

Terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero.

NaOCl al 3.5% activado mediante irrigación ultrasónica pasiva (IUP)

3.3.4. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	TIPO	ESCALA	VALORES
Efecto	Capacidad de un	Unidades	Cuantitativa	Razón/	Número de

Antibacteriano	agente químico, físico y/o mecánico, para eliminar o reducir el crecimiento bacteriano. (Abdelkarim-Elafifi et al., 2021)	formadoras de colonias (UFC)		Continua	colonias: (0 - x)
Técnicas de desinfección en conductos radiculares	Protocolo utilizado para lograr una parcial o completa eliminación de microorganismos y restos dentinarios dentro del sistema de conductos radiculares. (Asnaashari et al., 2020)	<ul style="list-style-type: none"> -Longitud de onda(nm) -Potencia(watts) -Energía(J) -Tiempo de pre irradiación (minutos) -Tiempo de irradiación (segundos) -Concentración del fotosensibilizador (%) -Concentración 	Cuantitativa	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> - Terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra: Grupo 1 - Terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra: Grupo 2 -NaOCl al 3.5 %

		del irrigante (%)			activado mediante IUP: Grupo control
--	--	-------------------	--	--	---

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

30 premolares inferiores monorradiculares de humanos extraídos por motivo ortodóntico.

3.4.2. Muestra

Para el tamaño de la muestra se empleó la fórmula para comparar medias, considerándose un nivel de confianza del 99% y potencia de 80%.

$$n = [2 * (Z\alpha + Z\beta)^2 * s^2] / d^2$$

$$n = [2 * (2.58 + 0.84)^2 * 0.15] / 0.60$$

$$n = 9$$

Donde:

Coficiente de confianza	Z α	2.58
Coficiente de potencia de prueba	Z β	0.84
Desviación estándar del grupo control	S	0.15

Diferencia mínima para detectar	d	0.6
Tamaño de muestra	N	9

El dato de desviación estándar fue tomado del estudio antecedente de Teocrito Carlesi et al. (2023).

El resultado del cálculo muestral fue de 9 piezas dentarias, por ende, se trabajó con 10 piezas dentarias en cada grupo, distribuidas de la siguiente manera:

- Grupo TFD de uso endodóntico con fibra: 10 premolares inferiores monorradiculares humanos irradiados con láser de 660 nm y fibra de polímero.
- Grupo TFD de uso endodóntico sin fibra: 10 premolares inferiores monorradiculares humanos tratados irradiados con láser de 660 nm sin fibra de polímero.
- Grupo control positivo: 10 premolares inferiores monorradiculares humanos tratados con hipoclorito de sodio al 3.5% activado mediante irrigación ultrasónica pasiva (IUP)

3.4.3. Unidad de análisis

Premolar inferior monorradicular humano permanente contaminado con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

3.4.4. Muestreo

Asignación aleatoria de grupos a comparar.

3.4.5. Criterios de selección

3.4.5.1. Criterios de inclusión. Se consideraron:

- Premolares inferiores.
- Premolares inferiores extraídas en un periodo no mayor a 6 meses conservadas en suero fisiológico.
- Premolares inferiores con corona completa.
- Premolares inferiores similares en tamaño y forma.

- Premolares inferiores de conducto único.

3.4.5.2. Criterios de exclusión. Se consideraron:

- Premolares inferiores con amplias lesiones cariosas.
- Premolares inferiores con fracturas radiculares.
- Premolares inferiores con raíz corta y dilacerada.
- Premolares inferiores con conducto curvo.
- Premolares inferiores con calcificaciones.
- Premolares inferiores con ápice bilateral y/o formación incompleta.
- Premolares inferiores con tratamiento endodóntico previo.
- Premolares inferiores con defecto en cemento.

3.5. Instrumentos

La presente investigación fue medida a través del recuento de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) del contenido de muestras estudiadas al inicio y final de la aplicación de protocolos de desinfección bacteriana, las cuales se depositaron sobre placas petri. (Anexo D)

3.6. Procedimientos

3.6.1. Recolección y selección de la muestra

Se recolectaron premolares monorradiculares recientemente extraídos por motivo ortodóntico, los cuáles fueron sumergidos en un recipiente con NaOCl al 5.25% durante 30 minutos para descontaminación y remoción de restos de tejido orgánico, inmediato fueron conservados e hidratados en NaCl al 0,9% a temperatura ambiente hasta iniciar el estudio, de acuerdo a la investigación de Sarda et al. (2019).

30 premolares inferiores humanos fueron seleccionados con una longitud promedio de 20 a 22 mm. Se realizó la toma de radiografía periapical digital en 2 angulaciones: bucolingual y mesiodistal para verificar los criterios antes mencionados a nivel radiográfico. Este

procedimiento fue ejecutado en la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal, de acuerdo a la investigación de Chahuara et al. (2018) y Torres et al. (2022) (Anexo E).

3.6.2. Preparación de la muestra

Se seccionaron transversalmente todas las coronas en la unión cemento-esmalte utilizando un micromotor de mano Strong 210 (Saeshin Precision Co., Ltd., Corea del Sur) y un disco de corte Diamond Disc 0.20 mm para estandarizar la longitud radicular a 15 mm, con la finalidad de que la ejecución sea similar en todas las muestras.

Para determinar la longitud de trabajo se empleó la lima tipo K tamaño 10 (Dentply, Ballaiges, Suiza), la cual atravesó el conducto hasta ser visible en el ápice para continuar con la preparación biomecánica.

Los conductos radiculares se instrumentaron con limas reciprocantes MicroMega One Reci 35.04 y la permeabilización radicular con lima tipo K tamaño 10. Previamente, se realizó preparación cervical con lima rotatoria SX del sistema Protaper Next (Dentply-Maillefer, Ballaiges, Suiza).

Se irrigó cada conducto con 2 ml solución de NaOCl al 3.5 %, y la aspiración con una NaviTip 30 G (Ultradent, South Jordan, UT, EE. UU.).

Cada solución irrigadora fue renovada y activada mediante irrigación ultrasónica pasiva (IUP). El dispositivo ultrasónico empleado fue el Ultra X (Eighteeth, Changzhou Sifary Medical Technology Co.,Ltd.), el cual fue activado durante 3 ciclos cada 20 segundos (6 ml de NaOCl al 3.5 %) y luego con 3 ml de ácido cítrico al 10%, según lo descrito por (Andrabi et al., 2014).

El protocolo de IUP se realizó de la siguiente manera: Se introdujo una aguja Navitip 30-G a 1 mm antes de la longitud de trabajo y se depositará 2 ml de NaOCl al 3.5 % hasta llenar completamente el conducto. Luego se activó el irrigante con una punta ultrasónica acoplada al

dispositivo ultrasónico a 1 mm antes de la longitud de trabajo. Este procedimiento se repitió por dos veces consecutivas.

Culminado dicho procedimiento, se irrigó el conducto con 1 ml de solución de ácido cítrico al 10% para la remoción de barrillo dentinario a longitud de trabajo hasta su llenado completo en el conducto. Luego se activó el irrigante con una punta ultrasónica acoplada al dispositivo ultrasónico a 1 mm antes de la longitud de trabajo. Este procedimiento se repitió por dos veces consecutivas.

Inmediato, los conductos se irrigaron y aspiraron con una aguja endodóntica NaviTip 30-G con un volumen total de 4 ml de NaCl al 0.9 %. Finalmente, el contenido restante de muestras se absorbió con conos de papel tamaño 40 (Spident Co., Ltd., Incheon, Corea del Sur), como indica la investigación de Chahuara et al. (2018).

Se procedió a posicionar cada muestra en tubos crioviales, las cuáles fueron fijadas en bloques de silicona Zetaplus (Zhermack SpA, Badia Polesine, Italia). Se procedió a esterilizar las muestras en autoclave a 121 °C durante 20 minutos y 1 atmósfera de presión, según lo descrito por Torres et al. (2022) (Anexo F).

3.6.3. Cultivo de la cepa bacteriana

Este procedimiento se realizó en el Servicio de Microbiología del HNHU. Para evitar contaminación del ambiente hacia las muestras trabajadas se utilizó un mechero de Bunsen a 15 cm aproximado del área.

Se cultivó la cepa bacteriana “*Enterococcus faecalis*” (ATCC 29212), según las indicaciones del fabricante: para reactivar o revitalizar la cepa de referencia se utilizó el medio Agar Sangre con base de Tripticasa de Soya (TSA) en una placa petri, y se incubó a 37°C durante 24 horas, luego de lo cual se hizo una resiembra de colonias de *Enterococcus faecalis* en el medio de TSA y se incubó a 37°C durante 24 horas para su crecimiento, de acuerdo a la investigación de Torres et al. (2022) y Sante et al. (2023) (Anexo G).

3.6.4. Contaminación de las muestras

Los inóculos de la cepa *Enterococcus faecalis* se prepararon en solución salina estéril a una concentración de 0.5 de la escala de McFarland. Luego, se obtuvo una suspensión bacteriana y esta fue mezclada con caldo infusión cerebro corazón estéril (BHI) en proporción 1/1, de acuerdo con la investigación de Asnaashari et al. (2020).

La suspensión bacteriana se inoculó completamente en cada muestra, empleando una NaviTip 30-G (Ultradent, South Jordan, UT, EE. UU.) con tuberculina, hasta llenar por completo el conducto radicular y observar que el inóculo sobrepase, luego el ápice se secó con gasa estéril para inmediatamente sellar el foramen apical con resina compuesta para evitar la fuga bacteriana durante el proceso de inoculación, de acuerdo con la investigación de Torres et al. (2022).

Se procedió a incubar las muestras hasta 21 días a 37°C en condiciones microaerofilicas para que el inóculo bacteriano ingrese adecuadamente a los túbulos dentinarios. El medio de cultivo se renovó cada 48 horas por nueva suspensión bacteriana mezclada con caldo de BHI para lograr la maduración de biofilm de *E. faecalis*, de acuerdo con la investigación de Abu Hasna et al. (2020) (Anexo H).

3.6.5. Toma inicial de la muestra

Después del proceso de contaminación, se irrigó 2 ml de NaCl al 0.9% en cada conducto radicular, empleando una NaviTip 30-G (Ultradent, South Jordan, UT, EE. UU.) con tuberculina para eliminar el excedente de medio de cultivo. Se tomó la muestra a través de un cono de papel estéril tamaño 40 (Spident Co., Ltd., Incheon, Corea del Sur) dentro de cada conducto, agitandolo circunferencialmente durante 30 segundos contra la superficie interna radicular y se transfirió a criotubos estériles, posteriormente estos fueron almacenados dentro de una caja criopack con una temperatura constante para ser enviado al laboratorio.

Finalmente, las muestras se dividieron aleatoriamente en tres grupos: un grupo control y dos grupos experimentales (10 muestras por grupo), a cada microtubo se le asignó una numeración del 1 al 30, luego se realizó mediante un sorteo virtual dinámico la elección en orden de las muestras, de la siguiente manera: TFD+F (terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra), TFD+NF (terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra) y control (NaOCl al 3.5 % + IUP) (Anexo I).

3.6.6. Aplicación de la terapia fotodinámica

Este procedimiento se realizó en la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la UNFV. Para evitar contaminación del ambiente hacia las muestras trabajadas se utilizaron tres mecheros a 15 cm aproximado del área.

Para el grupo de TFD+F, se aplicó el fotosensibilizador azul de metileno a una concentración del 0.005% (Chimiolux, Aptivalux, Belo Horizonte, MG, Brasil).

Inmediatamente, 0.5 ml de azul de metileno al 0.005% fueron introducidos en cada conducto radicular a través de una NaviTip 30-G (Ultradent, South Jordan, UT, EE.UU.), el cual permaneció dentro durante 5 minutos (tiempo de pre irradiación).

De la misma manera que el grupo TFD+F, para el grupo de TFD +NF se aplicó el fotosensibilizador azul de metileno a una concentración del 0.005% (Chimiolux, Aptivalux, Belo Horizonte, MG, Brasil), y se prosiguió con el procedimiento previamente mencionado.

El dispositivo láser Therapy XT (DMC, São Paulo, Brasil) con emisión de luz roja fue empleado para la emisión de luz durante 90 segundos (tiempo de irradiación). Este láser se utilizó a una longitud de onda (λ) de 660 nanómetros, en modo onda continua.

Para el uso del láser en la terapia fotodinámica se ejecutó según el protocolo del Centro de Investigación y Docencia de Fototerapia en Ciencias de la Salud (Instituto NUPEN), donde indican los siguientes parámetros: potencia 100 mW, energía 9 J, dosis 320 J/cm² y tiempo de irradiación 90 segundos.

Una vez cumplido los 5 minutos de tiempo de pre irradiación, empleamos la emisión de luz para el grupo TFD+F insertando una fibra de polímero de 200 μm en el interior del conducto radicular a una distancia de 2 mm de longitud de trabajo, y a través de movimientos helicoidales de apical a cervical logramos que la luz se distribuya 360°. Para el grupo TFD+NF, no se empleó la fibra, y la emisión de la luz fue efectuada posicionando la punta óptica del láser en la entrada del conducto radicular (Anexo J).

3.6.7. Aplicación del grupo control

Para el grupo control positivo, las muestras inoculadas contaminadas se irrigaron con 2 ml de NaOCl al 3.5 % empleando una NaviTip 30-G (Ultradent, South Jordan, UT, EE.UU.) colocada a una distancia de 1 mm de la longitud de trabajo durante 20 segundos hasta su llenado completo en el conducto. Luego se activó el irrigante con una punta ultrasónica acoplada al dispositivo ultrasónico a 1 mm antes de la longitud de trabajo. Este procedimiento se repitió por dos veces consecutivas (Anexo K).

3.6.8. Toma final de la muestra

Culminado la aplicación de desinfección de los conductos radiculares de los grupos TFD+F, TFD+NF y control positivo, se irrigaron con 3 ml de NaCl al 0.9%, empleando una NaviTip 30-G (Ultradent, South Jordan, UT, EE. UU.) con tuberculina, para eliminar el exceso de residuo. Se tomó la muestra a través de un cono de papel estéril tamaño 40 (Spident Co., Ltd., Incheon, Corea del Sur) dentro de cada conducto, agitandolo circunferencialmente durante 30 segundos contra la superficie interna radicular y se transfirió a criotubos estériles, posteriormente estos fueron almacenados dentro de una caja criopack con una temperatura constante para ser enviado al laboratorio (Anexo L).

3.6.9. Análisis de cultivo microbiológico inicial y final

Los criotubos con las muestras obtenidas antes y después de la desinfección fueron disueltas con 1 ml de NaCl al 0.9%, para luego agitarse durante 60 segundos y proceder al análisis microbiológico.

Mediante el método de “estría por agotamiento” con asa calibrada estéril, se procedió a sembrar las colonias de “*Enterococcus faecalis*”. Para lo cual, se tomó una muestra de 1 μ l (de cada disolución) con el asa calibrada estéril, y se sembró en cada placa que contenía Agar HiCrome TM UTI (M1353- HiMedia Laboratories, Mumbai, India) para visualización de las colonias bacterianas. Las muestras fueron incubadas a 37°C durante 48 horas. Después del periodo de incubación, se contabilizó el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) de cada una de las muestras contaminadas (antes de la aplicación de los grupos) y las descontaminadas (después de la aplicación de los grupos), de acuerdo con la investigación de Torres et al. (2022) y Sante et al. (2023) (Anexo M).

3.6.10. Capacitación de medición

La investigadora recibió la capacitación sobre el manejo de los sistemas láser y la aplicación de la Terapia Fotodinámica, a cargo del Dr. Sergio Jiménez Sánchez, presidente Fundador de la Asociación Peruana de Láser en Odontología (APLO-GELO Perú). Por otro lado, la capacitación sobre el manejo endodóntico estuvo a cargo de los docentes de la asignatura de Endodoncia de la UNFV.

El conteo de UFC/ml fue efectuado por un especialista en microbiología perteneciente al Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

3.7. Análisis de datos

Los resultados del conteo de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) de *E. faecalis* inicial y final de cada grupo de las muestras estudiadas, fueron ingresados a una base de datos en el programa Microsoft Excel.

Los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva e inferencial utilizando el programa Microsoft Excel 2016, y el programa estadístico Stata v.18; respectivamente.

Se calcularon las medidas de tendencia central porque los valores que se obtuvieron en el recuento de UFC/ml son de escala cuantitativa: para la descripción de los datos se calculó la media y mediana por presentar valores muy dispersos, y no presentaban distribución normal. Para evaluar la normalidad de datos se utilizó la prueba de Shapiro wilk.

Los datos obtenidos de UFC/ml se presentaron en tablas de resumen para los valores descriptivos.

Para el análisis estadístico inferencial, debido a que los datos obtenidos no presentaban una distribución normal se utilizaron pruebas no paramétricas. Para evaluar el efecto antibacteriano entre los grupos se utilizó la prueba U de Mann Whitney. Así mismo, para evaluar la diferencia inicial y final de cada grupo se utilizó la prueba de Signo de rango de Wilcoxon. El nivel de significancia que se ha utilizado para el análisis estadístico fue de 0.05.

3.8. Consideraciones éticas

Para el presente estudio in vitro, se utilizaron como unidades de análisis piezas dentarias premolares monorradiculares de humanos extraídos por motivo ortodóntico. No existe vulneración ética en dicho procedimiento porque las piezas dentarias fueron extraídas por motivo ajeno al estudio y obtenidas por donación voluntaria de 2 consultorios odontológicos, evidenciando las constancias respectivas (Anexo N).

Finalmente, el presente trabajo de investigación fue aprobado y autorizado para su ejecución por el Comité de Ética de la Facultad de odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal (Anexo Ñ) y por el Comité de Ética de Investigación del Hospital Nacional Hipólito Unanue, respetando el protocolo de elaboración, respectivamente.

Se declara no tener ningún tipo de conflicto de interés.

IV. RESULTADOS

El presente estudio experimental tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC 29212. Para analizar dichas variables, se empleó el recuento de (UFC/ml) como instrumento de medición. Los resultados se presentaron en tablas de la siguiente manera:

Tabla 1

Estadística comparativa del efecto antibacteriano sobre E. faecalis ATCC 29212 entre los grupos de estudio TFD+F y TFD+NF

GRUPO	N	Efecto antibacteriano		
		Media	Mediana	p
TFD+F	10	43830.0	27825	0.2568
TFD+NF	10	33925.0	15000	

Nota. Al comparar el efecto antibacteriano (diferencia entre el recuento de UFC/ml inicial menos el recuento de UFC/ml final) del grupo TFD+F y del grupo TFD+NF sobre *E. faecalis* ATCC 29212, se observó que fue mayor en el grupo 1 mostrando una mediana de 27825 UFC/ml, en comparación del grupo 2 con 15000 UFC/ml. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$). *Prueba U de Mann Whitney; UFC/ml: Unidades formadoras de colonias por mililitro; TFD+F: Terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero; TFD+NF: Terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero.

Tabla 2

Estadística descriptiva del recuento de UFC/ml inicial y final de E. faecalis ATCC 29212 de los grupos de estudio TFD+F, TFD+NF y grupo control

GRUPO	N	Inicial	Final
		Mediana	Mediana
TFD+F	10	30000	1575
TFD+NF	10	16000	1025
CONTROL	10	31000	125

Nota. Al determinar el recuento de UFC/ml inicial y final de *E. faecalis* ATCC 29212 del grupo TFD+F, el grupo TFD+NF y el grupo control, se observó que la mediana disminuyó de 30000 a 1575 UFC/ml en el grupo 1, de 16000 a 1025 UFC/ml en el grupo 2 y de 31000 a 125 UFC/ml en el grupo control. TFD+F: Terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero; TFD+NF: Terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero; control: Hipoclorito de sodio (NaOCl) al 3.5% activado mediante irrigación ultrasónica pasiva (IUP); UFC/ml: Unidades formadoras de colonias por mililitro.

Tabla 3

Comparación del efecto antibacteriano entre los grupos de estudio TFD+F, TFD+NF y grupo control sobre E. faecalis ATCC 29212, a través del recuento de UFC/ml inicial y final.

GRUPO	N	Inicial	Final	p
		Mediana	Mediana	
TFD+F	10	30000	1575	0.0051
TFD+NF	10	16000	1025	0.0051
CONTROL	10	31000	125	0.0051

Nota. Al comparar el efecto antibacteriano del grupo TFD+F, grupo TFD+NF y el grupo control sobre *E. faecalis* ATCC 29212, se observó en cada uno de ellos que las diferencias del recuento de UFC/ml inicial menos el recuento de UFC/ml final fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$). *Prueba de signos rangos de Wilcoxon; TFD+F: Terapia fotodinámica

de uso endodóntico con fibra de polímero; TFD+NF: Terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero; control: Hipoclorito de sodio (NaOCl) al 3.5% activado mediante irrigación ultrasónica pasiva (IUP); UFC/ml: Unidades formadoras de colonias por mililitro.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El fracaso de un tratamiento endodóntico está dado principalmente por la persistencia de microorganismos patógenos que no han logrado ser eliminados del interior de los conductos radiculares. (Alghamdi y Shakir, s. f.; et al., 2020; Neelakantan et al., 2017)

A través de métodos como la instrumentación mecánica y el uso de irrigantes químicos biocompatibles es posible lograr la desinfección de los conductos radiculares. Sin embargo, erradicar microorganismos presentes dentro de su compleja anatomía de manera completa no ha sido posible, en especial a los que se encuentran bajo la forma de biofilm o biopelículas adheridas. (Estrela et al., 2014)

Siendo el “*Enterococcus faecalis*”, una bacteria patógena que presenta alta resistencia de supervivencia ante la medicación e irrigación endodóntica, con mayor prevalencia de ser encontrado en una periodontitis apical crónica (infecciones secundarias) o en conductos radiculares ya obturados, que en infecciones primarias. (Portenier et al., 2003)

Es por ello, que dentro de la búsqueda de terapias alternativas y/o complementarias al tratamiento endodóntico se encuentra la terapia fotodinámica. Se ha demostrado su capacidad antimicrobiana, visto como única opción, en combinación con otros sistemas de tratamiento endodóntico.

Con la finalidad de garantizar una mayor tasa de éxito en la reducción de fracasos endodónticos y/o eliminación de carga bacteriana en los conductos radiculares; el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

En esta investigación evidenciamos que la terapia fotodinámica presentó una reducción estadísticamente significativa en el recuento final de unidades formadoras de colonias (UFC) a comparación del recuento inicial de UFC. A pesar de que, las muestras tratadas con terapia fotodinámica con fibra de polímero mostraron una mayor reducción de UFC que las muestras

tratadas con terapia fotodinámica sin fibra de polímero, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambas. En consecuencia, la terapia fotodinámica presenta un potencial efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* independientemente del uso de la fibra de polímero.

Los resultados de este estudio son similares con respecto a los parámetros de la terapia fotodinámica empleados en el estudio in vitro de Margarita Sante et al. (2023) donde evaluaron el efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica utilizando láser diodo de longitud de onda de 660 nm con fibra de 200 μm , aplicando tiempos de pre irradiación de 1, 3 y 5 minutos. Concluyendo que la TFD aplicando 5 minutos de pre irradiación fue más efectiva contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El factor para considerar sería la diferencia de metodología para la toma de muestra microbiológica, pues no se realizó una comparativa inicial del recuento de colonias.

Similar a lo anterior descrito, Torres et al. (2022) realizaron un estudio donde evaluaron el efecto de la terapia fotodinámica utilizando el azul de metileno y el verde de malaquita como fotosensibilizadores contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; se incluyó un grupo control. El dispositivo láser fue asociado a una fibra flexible con una punta de 200 μm de diámetro, dando como resultado que la terapia fotodinámica presentó un efecto antibacteriano significativo, siendo más efectiva en las muestras donde se aplicó azul de metileno. Los factores a considerar serían la aplicación de 2 tipos de fotosensibilizadores; y la diferencia de metodología para la toma de muestra microbiológica, pues no se realizó una comparativa inicial del recuento de colonias.

Sin embargo, otros estudios evidenciaron resultados en donde la terapia fotodinámica combinada con otros protocolos de desinfección demostró un mayor efecto antibacteriano que utilizada por sí sola; como el estudio realizado por Abu Hasna et al. (2020) donde concluyeron que las muestras tratadas con N- acetilcisteína (NAC) en combinación con la terapia

fotodinámica, seguido de las tratadas con NAC promovieron una mayor reducción significativa de UFC/ml de *Enterococcus faecalis* a comparación de las muestras tratadas solo con terapia fotodinámica. El motivo de esta diferencia podría deberse al empleo de una menor potencia (40 mW), una menor densidad de (120 J/cm²) y un tiempo de irradiación aumentado (2 minutos); según el autor existen estudios que no llegan a un acuerdo sobre un protocolo de aplicación estándar. Por lo que, consideramos la importancia de aplicar los parámetros descritos según el Centro de investigación y docencia de fototerapia en ciencias de la salud (Instituto NUPEN) por su alto índice de resultados positivos.

Similar al estudio anterior, Teocrito Carlesi et al. (2023) concluyeron en su estudio in vitro que la terapia fotodinámica y el fotosensibilizador ácido aminolevulínico al 5% tuvieron mayor efecto antibacteriano contra el *Enterococcus faecalis* cuando se complementaron que al ser utilizados de manera individual. El motivo de esta diferencia en los resultados obtenidos podría deberse a que no se empleó un fotosensibilizador en las muestras tratadas sólo con láser de luz roja (660 nm), el cuál es fundamental para que ocurra la fotoactivación; por ende, la muerte celular bacteriana y/o daño de la pared o membrana celular no pudo haber sido posible.

Este resultado es corroborado por de Vasconcelos Neves et al. (2020) donde evaluaron el efecto de la terapia fotodinámica asociado a una fibra intraconducto, combinada con sistema Endo finisher XP, NaOCl al 2,5 % e irrigación ultrasónica pasiva. Concluyendo que la terapia fotodinámica fue efectiva contra el *Enterococcus faecalis*, sin embargo, al ser combinada con otros protocolos de irrigación presentó una reducción significativamente mayor de UFC/ml que utilizada por sí sola. Según el autor esto podría deberse a que no se coadyuvó un irrigador con actividad antimicrobiana comprobada como el NaOCl, siendo la solución salina ineficiente para reducir la carga bacteriana.

Otro factor importante a tener en cuenta, es el uso de la fibra transmisora de luz a lo largo del conducto radicular. En el presente estudio se empleó una fibra de polímero de 200 μm de diámetro acoplada al láser.

De acuerdo con lo anterior descrito, nuestros resultados guardan similitud con respecto a los datos empleados acerca de la fibra en el estudio in vitro de Asnaashari et al. (2020) donde evaluaron el efecto de la terapia fotodinámica y la activación ultrasónica, así como la profundidad de penetración del azul de metileno. Se empleó el láser de diodo de 660 nm el cual fue asociado a una fibra de 200 μm de diámetro para activar al AM de 25 $\mu\text{g/ml}$, donde el autor concluyó que la TFD redujo significativamente las UFC/ml de *E. faecalis* (90,08%).

El diseño, tamaño y material de la fibra pueden influir en los resultados del efecto de la terapia fotodinámica, como en el estudio de Abu Hasna et al. (2020) donde empleó una fibra de mayor diámetro (400 μm). Este factor podría alterar los resultados ya que al ser de un diámetro similar a una lima tamaño 40, tendría que adaptarse a conductos radiculares amplios como de las piezas dentarias incisivos o caninos en comparación de premolares o molares donde el conducto radicular es más estrecho, impidiendo el ingreso profundo de la fibra. Por lo que, resulta más conveniente hacer el uso de una de 200 μm para que la luz tenga mayor alcance hacia la región apical.

En este estudio para el análisis microbiológico empleamos el método de recuento de UFC/ml, en el cual resultó que no hubo diferencia significativa entre las muestras tratadas con terapia fotodinámica con fibra de polímero y las muestras tratadas con terapia fotodinámica sin fibra de polímero. A pesar de ser empleado en la mayoría de estudios, como los descritos por Margarita Sante et al. (2023) y Torres et al. (2022) debido a su practicidad y acceso económico, existen limitaciones en la recolección de bacterias presentes en los conductos accesorios, laterales y/o las proximidades de los túbulos dentinarios donde no es posible el ingreso de los conos de papel. Por lo que, en otras investigaciones como de los autores Teocrito Carlesi et al.

(2023) y Abu Hasna et al. (2020) sugieren el uso de métodos basados en microscopía electrónica de barrido y la microscopía de barrido láser confocal para detectar la viabilidad bacteriana en los túbulos dentinarios.

Los resultados mostraron que la terapia fotodinámica de uso endodóntico presenta un potencial efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* independientemente del uso de la fibra de polímero. Por lo tanto, se sugiere la continuación en investigación de este estudio.

VI. CONCLUSIONES

6.1. La terapia fotodinámica de uso endodóntico presenta un potencial efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* independientemente del uso de la fibra de polímero, sin embargo, el grupo control con el uso de hipoclorito de sodio tuvo una mayor inhibición de crecimiento bacteriano.

6.2. La terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero presentó una mayor reducción del recuento de UFC/ml de *Enterococcus faecalis* que la terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero. Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa.

6.3. El mejor efecto antibacteriano lo presentó el grupo control, seguido de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero; y por último de la terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero, donde se registró una diferencia estadísticamente significativa para todos los tratamientos.

VII. RECOMENDACIONES

7.1. Realizar mayores investigaciones de la aplicación de la terapia fotodinámica de uso endodóntico y su efectividad frente a otras especies bacterianas multirresistentes.

7.2. Realizar mayores investigaciones de la terapia fotodinámica en donde se pueda generar una activación del fotosensibilizador mediante un dispositivo de activación ultrasónica, previa a la irradiación de luz láser, y así lograr el ingreso más profundo de este hacia los túbulos dentinarios.

7.3. Realizar investigaciones acerca de la terapia fotodinámica de uso endodóntico aplicada en estudios experimentales in vivo.

VIII. REFERENCIAS

- Abdelkarim-Elafifi, H., Parada-Avenidaño, I., y Arnabat-Dominguez, J. (2021). Photodynamic Therapy in Endodontics: A Helpful Tool to Combat Antibiotic Resistance? A Literature Review. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, *10(9)*, 1106. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091106>
- Abu Hasna, A., Khoury, R. D., Toia, C. C., Gonçalves, G. B., de Andrade, F. B., Talge Carvalho, C. A., Ribeiro Camargo, C. H., y Carneiro Valera, M. (2020). In vitro Evaluation of the Antimicrobial Effect of N-acetylcysteine and Photodynamic Therapy on Root Canals Infected with *Enterococcus faecalis*. *Iranian Endodontic Journal*, *15(4)*, 236-245. <https://doi.org/10.22037/iej.v15i4.26865>
- Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N., y Reed, M. (2001). The History of Photodetection and Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology*, *74(5)*, 656-669. [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2001\)0740656THOPAP2.0.CO2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2001)0740656THOPAP2.0.CO2)
- Afkhami, F., Karimi, M., Bahador, A., Ahmadi, P., Pourhajibagher, M., y Chiniforush, N. (2020). Evaluation of antimicrobial photodynamic therapy with toluidine blue against *Enterococcus faecalis*: Laser vs LED. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, *32*, 102036. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102036>
- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., Hahn, S. M., Hamblin, M. R., Juzeniene, A., Kessel, D., Korbelik, M., Moan, J., Mroz, P., Nowis, D., Piette, J., Wilson, B. C., y Golab, J. (2011). Photodynamic therapy of cancer: An update. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *61(4)*, 250-281. <https://doi.org/10.3322/caac.20114>
- Alghamdi, F., y Shakir, M. (s. f.). (2020). The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*, *12(3)*, e7257. <https://doi.org/10.7759/cureus.7257>

- Allison, R. R., y Sibata, C. H. (2010). Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7(2), 61-75. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2010.02.001>
- Andrabi, S. M.-U.-N., Kumar, A., Zia, A., Iftexhar, H., Alam, S., y Siddiqui, S. (2014). Effect of passive ultrasonic irrigation and manual dynamic irrigation on smear layer removal from root canals in a closed apex in vitro model. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 5(3), 188-193. <https://doi.org/10.1111/jicd.12033>
- Asnaashari, M., Kooshki, N., Salehi, M. M., Azari-Marhabi, S., y Amin Moghadassi, H. (2020). Comparison of Antibacterial Effects of Photodynamic Therapy and an Irrigation Activation System on Root Canals Infected With *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Study. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 11(3), 243-248. <https://doi.org/10.34172/jlms.2020.41>
- Baghdayan, A. S., Shankar, N., y Tendolkar, P. M. (2003). Pathogenic enterococci: New developments in the 21st century. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 60(12), 2622-2636. <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3138-0>
- Biel, M. A. (2002). Photodynamic therapy in head and neck cancer. *Current Oncology Reports*, 4(1), 87-96. <https://doi.org/10.1007/s11912-002-0053-8>
- Boutsioukis, C., y Arias-Moliz, M. T. (2022). Present status and future directions Irrigants and irrigation methods. *International Endodontic Journal*, 55 Suppl 3(Suppl 3), 588-612. <https://doi.org/10.1111/iej.13739>
- Carlesi, T., Dotta, T. C., Pierfelice, T. V., D'Amico, E., Lepore, S., Tripodi, D., Piattelli, A., D'Ercole, S., y Petrini, M. (2023). Efficacy of 5% Aminolaevulinic Acid and Red Light on *Enterococcus faecalis* in Infected Root Canals. *Gels*, 9(2), 125. <https://doi.org/10.3390/gels9020125>

- Chahuara, V. del P., Moscoso María E., Adalberto, J., Alfaro, E. G., Losza, M. V., César, P., Chuman, D. O., y Gilberto, J. (s. f.). (2018). Efectividad Antibacteriana de Protocolos de activación del irrigante en la eliminación de *Enterococcus faecalis*; Estudio con microscopía electrónica de barrido. <https://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13084/2594/Chahuara%20Vargas%20Veronica%20del%20Pilar.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chilakamarthi, U., y Giribabu, L. (2017). Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. *The Chemical Record*, 17(8), 775-802. <https://doi.org/10.1002/tcr.201600121>
- de Vasconcelos Neves, G., dos Santos, K. S. A., de Souza Sales Rocha, E. A. L., de Moura, R. Q., Morais Barros, D. G., Gominho, L. F., y de Castro Gomes, D. Q. (2020). Antibacterial Effect of Photodynamic Therapy on Root Canal Disinfection Combined with Different Irrigation Protocols. *Iranian Endodontic Journal*, 15(2), 90-95. <https://doi.org/10.22037/iej.v15i2.27801>
- Donlan, R. M., y Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167-193. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>
- Dougherty, T. J., Gomer, C. J., Henderson, B. W., Jori, G., Kessel, D., Korbek, M., Moan, J., y Peng, Q. (1998). Photodynamic Therapy. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 90(12), 889-905. <https://doi.org/10.1093/jnci/90.12.889>
- Estrela, C., Estrela, C. R. A., Barbin, E. L., Spanó, J. C. E., Marchesan, M. A., y Pécora, J. D. (2002). Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian Dental Journal*, 13(2), 113-117. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402002000200007>
- Estrela, C., Holland, R., Estrela, C. R. de A., Alencar, A. H. G., Sousa-Neto, M. D., y Pécora, J. D. (2014). Characterization of Successful Root Canal Treatment. *Brazilian Dental Journal*, 25, 3-11. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201302356>

- Fimple, J. L., Fontana, C. R., Foschi, F., Ruggiero, K., Song, X., Pagonis, T. C., Tanner, A. C. R., Kent, R., Doukas, A. G., Stashenko, P. P., y Soukos, N. S. (2008). Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. *Journal of endodontics*, 34(6), 728-734. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.03.011>
- Finlay, J. C., y Darafsheh, A. (2016). Light sources, drugs, and dosimetry. En *Biomedical Optics in Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery* (pp. 311-336). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1758-7_19
- Garcez, A. S., Fregnani, E. R., Rodriguez, H. M., Nunez, S. C., Sabino, C. P., Suzuki, H., y Ribeiro, M. S. (2013). The use of optical fiber in endodontic photodynamic therapy. Is it really relevant? *Lasers in Medical Science*, 28(1), 79-85. <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1073-8>
- Garcia-Diaz, M., Huang, Y.-Y., y Hamblin, M. R. (2016). Use of fluorescent probes for ROS to tease apart Type I and Type II photochemical pathways in photodynamic therapy. *Methods (San Diego, Calif.)*, 109, 158-166. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2016.06.025>
- Gursoy, H., Ozcakil-Tomruk, C., Tanalp, J., y Yılmaz, S. (2013). Photodynamic therapy in dentistry: A literature review. *Clinical Oral Investigations*, 17(4), 1113-1125. <https://doi.org/10.1007/s00784-012-0845-7>
- Huang, Z. (2005). A Review of Progress in Clinical Photodynamic Therapy. *Technology in Cancer Research y Treatment*, 4(3), 283-293. <https://doi.org/10.1177/153303460500400308>
- Jurič, I. B., y Anić, I. (2014). The Use of Lasers in Disinfection and Cleanliness of Root Canals: A Review. *Acta Stomatologica Croatica*, 48(1), 6-15. <https://doi.org/10.15644/asc48/1/1>
- Kim, M. M., y Darafsheh, A. (2020). Light Sources and Dosimetry Techniques for

- Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology*, 96(2), 280-294.
<https://doi.org/10.1111/php.13219>
- Konopka, K., y Goslinski, T. (2007). Photodynamic Therapy in Dentistry. *Journal of Dental Research*, 86(8), 694-707. <https://doi.org/10.1177/154405910708600803>
- Kwiatkowski, S., Knap, B., Przystupski, D., Saczko, J., Kędzierska, E., Knap-Czop, K., Kotlińska, J., Michel, O., Kotowski, K., y Kulbacka, J. (2018). Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomedicine y Pharmacotherapy*, 106, 1098-1107. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.049>
- Lee, M. T., Bird, P. S., y Walsh, L. J. (2004). Photo-Activated Disinfection Of The Root Canal: A New Role For Lasers In Endodontics. *Australian Endodontic Journal*, 30(3), 93-98.
<https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2004.tb00417.x>
- McCaughan, J. S. (1999). Photodynamic Therapy: A Review. *Drugs y Aging*, 15(1), 49-68.
<https://doi.org/10.2165/00002512-199915010-00005>
- Moreira, S. de A., Nunes, J. B., Colombo, F. A., Fonseca, N. da S. M., Viola, N. V. (2021). Radiographic and antimicrobial evaluation of enterococcus Faecalis and Actinomyces Israelii micro-organisms after photodynamic therapy (aPDT). *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 35, 102433. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102433>
- Mozo, S., Llana, C., y Forner, L. (2012). Review of ultrasonic irrigation in endodontics: Increasing action of irrigating solutions. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 17(3), e512-e516. <https://doi.org/10.4317/medoral.17621>
- Oliveira, B. P. de, Aguiar, C. M., y Câmara, A. C. (2014). Photodynamic therapy in combating the causative microorganisms from endodontic infections. *European Journal of Dentistry*, 08(3), 424-430. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.137662>
- Plotino, G., Grande, N. M., y Mercade, M. (2019). Photodynamic therapy in endodontics. *International Endodontic Journal*, 52(6), 760-774. <https://doi.org/10.1111/iej.13057>

- Portenier, I., Waltimo, T. M. T., y Haapasalo, M. (2003). Enterococcus faecalis- the root canal survivor and «star» in post-treatment disease. *Endodontic Topics*, 6(1), 135-159. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2003.00040.x>
- Sante M. Margarita (2023). Efectividad Antimicrobiana de la terapia fotodinámica aplicando diferentes tiempos de pre irradiación en conductos radiculares contaminados con *Enterococcus faecalis*; Estudio in vitro. https://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13084/7938/UNFV_FO_Sante_Medina_Margarita_Titulo_profesional_2023.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Santezi, C., Reina, B. D., y Dovigo, L. N. (2018). Curcumin-mediated Photodynamic Therapy for the treatment of oral infections—A review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 21, 409-415. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.01.016>
- Sarda, R. A., Shetty, R. M., Tamrakar, A., y Shetty, S. Y. (2019). Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy, diode laser, and sodium hypochlorite and their combinations on endodontic pathogens. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 28, 265-272. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.09.009>
- Siddiqui, S. H., Awan, K. H., y 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), 632-643. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2013.07.006>
- Siqueira, J. F., y Rôças, I. N. (2005). Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2--Redefining the endodontic microbiota. *Journal of Endodontics*, 31(7), 488-498. <https://doi.org/10.1097/01.don.0000157990.86638.49>
- Siqueira, J. F., y Rôças, I. N. (2008). Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *Journal of Endodontics*, 34(11), 1291-1301.e3. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.07.028>

- Siqueira Jr, J. F. (2001). Aetiology of root canal treatment failure: Why well-treated teeth can fail. *International Endodontic Journal*, 34(1), 1-10. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2001.00396.x>
- Stájer, A., Kajári, S., Gajdács, M., Musah-Eroje, A., y Baráth, Z. (2020). Utility of Photodynamic Therapy in Dentistry: Current Concepts. *Dentistry Journal*, 8(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/dj8020043>
- Tabassum, S., y Khan, F. R. (2016). Failure of endodontic treatment: The usual suspects. *European Journal of Dentistry*, 10(1), 144-147. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.175682>
- 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, e7408554. <https://doi.org/10.1155/2022/7408554>
- Trindade, A. C., De Figueiredo, J. A. P., Steier, L., y Weber, J. B. B. (2015). Photodynamic Therapy in Endodontics: A Literature Review. *Photomedicine and Laser Surgery*, 33(3), 175-182. <https://doi.org/10.1089/pho.2014.3776>
- Usacheva, M. N., Teichert, M. C., y Biel, M. A. (2003). The interaction of lipopolysaccharides with phenothiazine dyes. *Lasers in Surgery and Medicine*, 33(5), 311-319. <https://doi.org/10.1002/lsm.10226>
- Van der Sluis, L. W. M., Versluis, M., Wu, M. K., y Wesslink, P. R. (2007). Passive ultrasonic irrigation of the root canal: A review of the literature. *International Endodontic Journal*, 40(6), 415-426. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2007.01243.x>
- Wang, Z., y Chocat, N. (2010). Fiber-optic technologies in laser-based therapeutics: Threads for a cure. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11(4), 384-397. <https://doi.org/10.2174/138920110791233271>

- Walsh, L. J. (2003). The current status of laser applications in dentistry. *Australian Dental Journal*, 48(3), 146-155; quiz 198. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2003.tb00025.x>
- Wong, J., Manoil, D., Näsman, P., Belibasakis, G. N., y Neelakantan, P. (2021). Microbiological Aspects of Root Canal Infections and Disinfection Strategies: An Update Review on the Current Knowledge and Challenges. *Frontiers in Oral Health*, 2. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/froh.2021.672887>
- Zehnder, M. (2006). Root canal irrigants. *Journal of Endodontics*, 32(5), 389-398. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.09.014>
- Zhu, T. C., y Finlay, J. C. (2008). The role of photodynamic therapy (PDT) physics. *Medical Physics*, 35(7), 3127-3136. <https://doi.org/10.1118/1.2937440>

IX. ANEXOS

9.1. Anexo A

9.1.1. Carta de presentación dirigida al director general del Hospital Nacional Hipólito

Unanue



Universidad Nacional
Federico Villarreal

FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

"Año del Bicentenario de la consolidación de nuestra Independencia
y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

OFICINA DE GRADOS Y GESTIÓN DEL EGRESADO

Pueblo Libre, 5 de junio de 2024

Doctor
CARLOS ALBERTO BAZAN ALFARO
DIRECTOR
HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE

Presente.-

De mi especial consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, con la finalidad de presentarle a la Bachiller en Odontología Srta. Kamila Alejandra Silva Elera, quien se encuentra realizando el Plan de Tesis titulado:

«EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA DE USO
ENDODÓNTICO CON Y SIN FIBRA DE POLÍMERO SOBRE *Enterococcus faecalis*
ATCC 29212. IN VITRO»

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

- ✓ Realizar la parte Microbiológica del proyecto de tesis (cultivo, siembra e inoculación de la bacteria *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) en muestras previamente tratadas (dientes) para finalmente realizar un análisis microbiológico mediante un conteo inicial y final de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) antes y después de la aplicación de grupos de estudio.

Estas actividades, le permitirán al bachiller, desarrollar su trabajo de investigación.

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

Atentamente


Dr. FRANCO RAUL MAURICIO VALENTÍN
DECANO


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

Se adjunta: Plan de Tesis
019-2024
NT: 041526 - 2024
AAMM/Luz V.

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

Telef.:7480888 - 8335

9.2. Anexo B

9.2.1. Carta de aprobación del proyecto de tesis por el Comité de Ética en investigación del Hospital Nacional Hipólito Unanue

	PERÚ	Ministerio de Salud	Hospital Nacional Hipólito Unanue	Comité Institucional de Ética en investigación
---	-------------	----------------------------	--	---

Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho*

CARTA N° 121 - 2024 - CIEI - HHU

A : **KAMILA ALEJANDRA SILVA ELERA**

ASUNTO : **Aprobación de Proyecto de Tesis**

Referencia : Expediente N°24 - 027005 - 001

FECHA : El Agustino, 22 de agosto del 2024

Es grato dirigirme a usted, para dar respuesta a su documento de referencia donde solicita revisión y aprobación del Proyecto de tesis titulado: **“Efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre enterococcus faecalis ATCC 29212. IN VITRO”** Para optar el título profesional de Cirujano Dentista FO - UNFV.

El Comité, en sesión ordinaria de fecha miércoles 21 de agosto del presente año, y según consta en el Libro de actas N° 9, Acordó por unanimidad: Aprobar proyecto de tesis antes mencionado.

Atentamente,



MINISTERIO DE SALUD
Hospital Nacional Hipólito Unanue*

.....
DRA. ANGÉLICA RICCI YAURIVILCA
C.M.P. 8482
Presidenta del Comité de Ética en Investigación

ARY
Archivo

Avenida César Vallejo N° 1390 distrito El Agustino – Lima – Perú
Correo electrónico: ciei@hnhu.gob.pe - teléfono: 2919092, 3627777 anexo 2196

9.3. Anexo C

9.3.1. Carta de autorización de ejecución del proyecto de tesis por el Hospital Nacional

Hipólito Unanue

	PERÚ	Ministerio de Salud	Viceministerio de Prestaciones y Seguro en Salud	Hospital Nacional Hipólito Unanue	OFICINA DE APOYO A LA DOCENCIA E INVESTIGACIÓN
---	------	---------------------	--	-----------------------------------	--

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

El Agustino, 29 de agosto de 2024

CARTA N° 207 -2024-DG- OADI-N° 084 / HNHU

Señorita
KAMILA ALEJANDRA SILVA ELERA
 Investigadora Principal
 Presente.-

Asunto : Aprobación de Proyecto de Tesis
 Referencia : CARTA N°121-2024-CIEI-HNHU
 Expediente N°24-027005-001

De mi consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla cordialmente y comunicarle que, a través del documento de la referencia, el Comité Institucional de Ética en Investigación informa que en sesión ordinaria de fecha miércoles 21 de agosto del año en curso, según consta en el Libro de Actas N°9, acordó por unanimidad **APROBAR** el Proyecto de Tesis titulado: "EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA DE USO ENDODÓNTICO CON Y SIN FIBRA DE POLÍMERO SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212 IN VITRO".

En este sentido, y visto el expediente presentado, esta Dirección General **AUTORIZA** la ejecución del Proyecto de Investigación, recomendando que el periodo de vigencia de esta aprobación se considera por un año, el mismo que caducará el día 21 de agosto del 2025.

Sin otro particular, me despido de usted,

Atentamente,


 MINISTERIO DE SALUD
 Hospital Nacional "Hipólito Unanue"
 DR. MOISES ENRIQUE TAMBINI ACOSTA
 Director General (e)
 CMP: 16412


 META/RQM/jsm
 c.c. OADI-HNHU
 c.c. Archivo


 www.hnhu.gob.pe
 Av. César Vallejo 1390
 El Agustino
 Telf. 3625700, 3627777



9.4. Anexo D

9.4.1. Ficha de recolección de datos

	MUESTRAS	INICIAL	
		UFC (1ul)	UFC/ml
GRUPO TFD+F (Terapia fotodinámica con fibra)	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	10		

	MUESTRAS	FINAL			
		UFC (1 uL)	UFC/ml	UFC (10 uL)	UFC/ml
GRUPO TFD+F (Terapia fotodinámica con fibra)	1				
	2				
	3				
	4				
	5				

	6				
	7				
	8				
	9				
	10				

	MUESTRAS	INICIAL	
		UFC (1 ul)	UFC/ml
GRUPO TFD+NF (Terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra)	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	10		

	MUESTRAS	FINAL			
		UFC (1 uL)	UFC/ml	UFC (10 uL)	UFC/ml
GRUPO TFD+NF (Terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra)	1				
	2				
	3				

	4				
	5				
	6				
	7				
	8				
	9				
	10				

	MUESTRAS	INICIAL	
		UFC (1 ul)	UFC/ml
GRUPO CONTROL POSITIVO (NaOCl al 3.5%+IUP)	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	10		

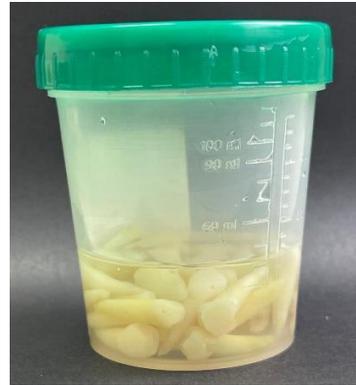
	MUESTRAS	FINAL			
		UFC (1 uL)	UFC/ml	UFC (10 uL)	UFC/ml
GRUPO CONTROL POSITIVO (NaOCl al 3.5%+IUP)	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	7				
	8				
	9				
	10				

9.5. Anexo E

9.5.1. Recolección y selección de la muestra



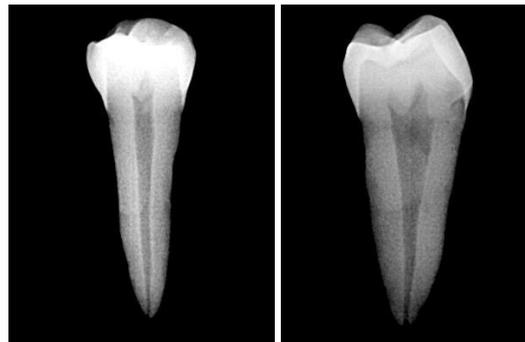
Recolección de premolares inferiores



Desinfección de la muestra en NaOCl al 5.25 % y almacenamiento en suero fisiológico al 0.9%.



Muestra preparada para toma radiográfica



Toma radiográfica para comprobar la presencia de un solo conducto radicular.

9.6. Anexo F

9.6.1. Preparación de la muestra



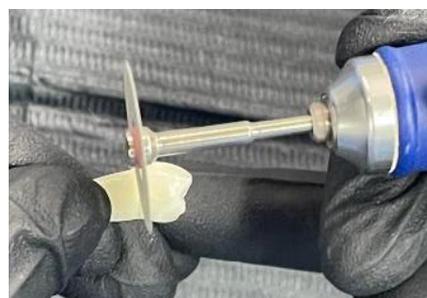
Disco diamantado de corte
DIAMOND DISC 0.20 mm y mandril.



Determinación y marcado de la unión
amelocementaria para realizar la
decoronación de la muestra.



Micromotor de mano STRONG
210.



Corte de la corona con disco y
determinación de la longitud radicular a
15 mm



Permeabilización del conducto radicular con lima tipo K nº10



Motor endodóntico rotatorio E-Connect Pro.



Limas reciprocantes MicroMega One RECI tamaño 35.04



Preparación cervical del conducto radicular con lima rotatoria Sx del sistema Protaper Next.



Preparación del conducto radicular con lima recíproca MicroMega One RECI 35.04 y permeabilización con lima tipo K n°10.



Equipo ultrasónico Ultra X de Eighteeth



Irrigación del conducto radicular con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 3.5 % (volumen total 6 ml)



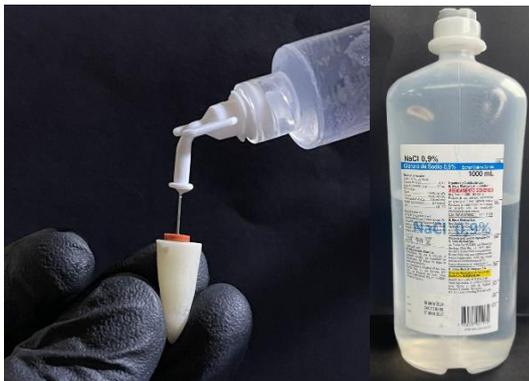
Activación ultrasónica pasiva del irrigante (IUP) en el conducto radicular con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 3.5 % (2ml cada 20 segundos)



Irrigación del conducto radicular con ácido cítrico al 10% (volumen total 3 ml)



Activación ultrasónica pasiva del irrigante (IUP) en el conducto radicular con ácido cítrico al 10 % (1ml cada 20 segundos)



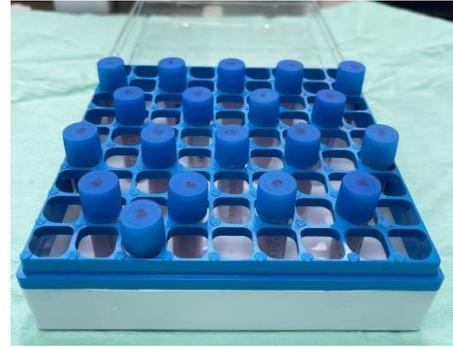
Irrigación con suero fisiológico (NaCl) al 0.9% (volumen total 4 ml)



Fijación vertical del conducto radicular con silicona pesada en el tubo criovial.



Secado del conducto radicular con cono de papel 40.



Colocación de la muestra en una caja autoclavable para su posterior esterilización.



Autoclave para esterilización de las muestras a 121°C durante 20 minutos.



Muestras esterilizadas, listas para ser inoculadas con la cepa bacteriana.

9.7. Anexo G

9.7.1. Cultivo de la cepa bacteriana



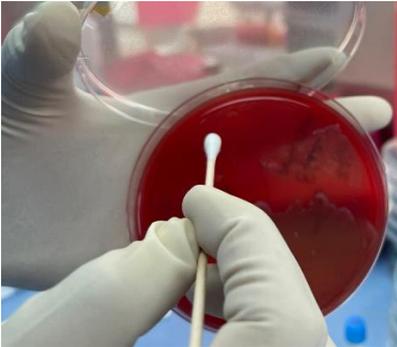
Mechero Bunsen utilizado para proporcionar un área estéril al campo de trabajo en el laboratorio de Microbiología.



Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 cultivada en medio Agar Sangre con TSA.

9.8. Anexo H

9.8.1. Contaminación de las muestras



Recolección de la cepa cultivada con ayuda de un hisopo estéril para la formación del inóculo.



Turbidímetro



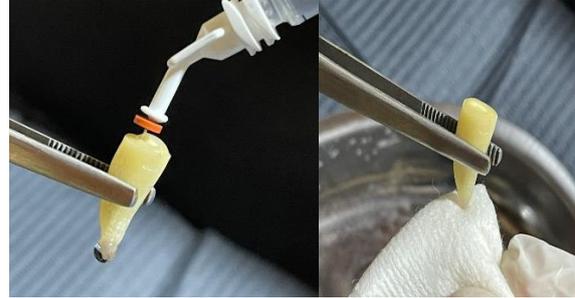
Suspensión del *Enterococcus faecalis* en 1 ml de solución salina para su medición del inóculo en escala 0.5 de Mc Farland.



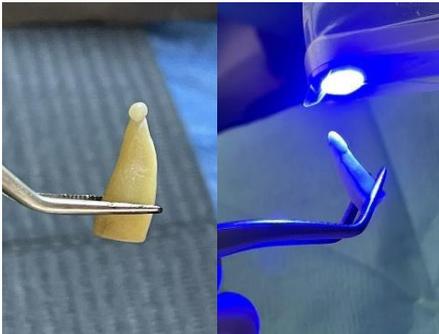
Caldo infusión cerebro corazón estéril (BHI) y suspensión de *Enterococcus faecalis* en BHI al interior de tubo criovial estéril (inóculo de 2 ml)



Retiro del inóculo de *Enterococcus faecalis* con una jeringa de tuberculina para su inoculación.



Primera inoculación con una aguja Navitip 30G de 17 mm, se debe observar el sobrepase apical del inóculo y secado del ápice radicular con una gasa estéril.



Aplicación de resina en la región apical y fotopolimerizado por 20 segundos para lograr el sellado apical.



Ápice radicular sellado para evitar fuga del inóculo bacteriano.



Continuación de inoculación con una aguja Navitip 30G de 17 mm, se debe observar el llenado en el conducto radicular.



Incubación de las muestras por 21 días a 37°C, para su posterior desinfección.

9.9. Anexo I

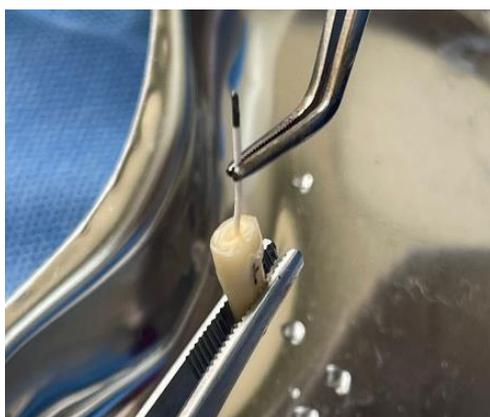
9.9.1. Toma inicial de la muestra



Eliminación del exceso del medio de cultivo (BHI) mediante irrigación con 2 ml de suero fisiológico y aspiración con jeringa de tuberculina.



Secado del conducto radicular con conos de papel estéril 40.



Toma inicial de la muestra contaminada con cono de papel estéril 40, efectuando movimientos circulares y adyacentes a las paredes del conducto radicular por 30 segundos.



Colocación de la muestra contaminada en un tubo criovial estéril para cultivo posterior.

9.10. Anexo J

9.10.1. Aplicación de la terapia fotodinámica



Materiales a usar estéril y uso de mecheros para proporcionar un área de campo de trabajo estéril.



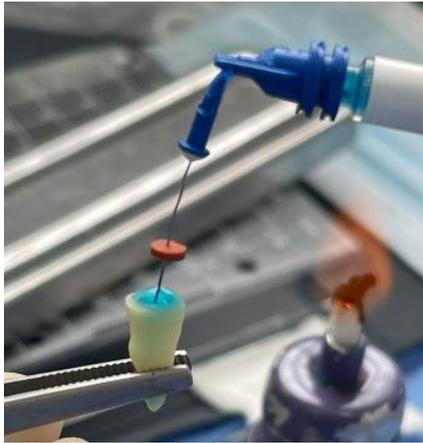
Láser Therapy XT (longitud de onda 660 nm, potencia 100 Mw, dosis 320 J/cm² y 9J de energía) y lentes protectores.



Fotosensibilizador azul de metileno al 0.005% (Chimiolux) para TFD.



Fibra de polímero de 200 micras de diámetro para ser acoplada a la punta del láser.



Preparación del grupo TFD+NF: Aplicación del fotosensibilizador azul de metileno al 0.005% en el conducto radicular con tiempo de pre irradiación por 5 min.



Preparación del grupo TFD+F: Aplicación del fotosensibilizador azul de metileno al 0.005% en el conducto radicular con tiempo de pre irradiación por 5 min.



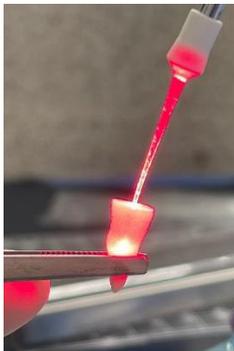
Instalación de la fibra de polímero de 200 μm en la punta del láser Therapy XT para posterior irradiación.



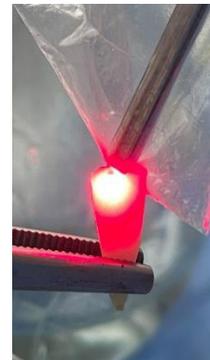
Irrigación con 3 ml de suero fisiológico en el conducto radicular a longitud de trabajo (14 mm)



Eliminación del exceso de fotosensibilizador mediante irrigación con 3 ml de suero fisiológico.



Irradiación láser en el grupo TFD + F, efectuando movimientos helicoidales de apical a cervical del conducto radicular a 2 mm de longitud de trabajo durante 90 segundos.



Irradiación láser en el grupo TFD + NF, colocando la punta del láser en la entrada del conducto radicular durante 90 segundos.

9.11. Anexo K

9.11.1. Aplicación del grupo control



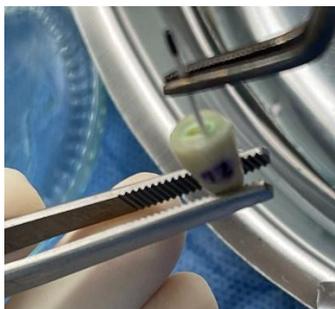
Preparación del grupo Control (NaOCl):
Aplicación de hipoclorito de sodio al 3.5 % con activación ultrasónica (IUP) (2 ml por cada ciclo de 20 segundos, total de 3 ciclos) a longitud de trabajo (14 mm).



Equipo ultrasónico Ultra X de Eighteeth

9.12. Anexo L

9.12.1. Toma final de la muestra



Toma final de la muestra desinfectada con cono de papel estéril 40, efectuando movimientos circulares y adyacentes a las paredes del conducto radicular por 30 segundos.



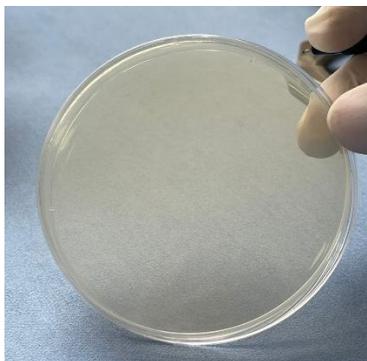
Colocación de la muestra desinfectada en un tubo criovial estéril para cultivo posterior.



Colocación del criovial en un cooler para conservar la muestra a una temperatura constante para ser enviado al laboratorio.

9.13. Anexo M

9.13.1. Análisis de cultivo microbiológico inicial y final



Agar HiCrome UTI (Agar para identificación de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) en placa petri.



Ejecución de la tesista en el laboratorio de Microbiología del HNHU.



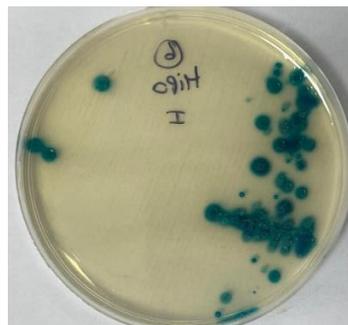
Colocación de 1 ml de suero fisiológico en tubo criovial con el contenido de muestra inicial y final (cono de papel), para ser agitada y obtener una solución homogénea.



Recolección de 1 y 10 μ l de la muestra de *Enterococcus faecalis* con asa calibrada estéril para cultivo en Agar HiCrome TM UTI.



Incubación de las muestras de cultivo de *Enterococcus faecalis* a 37° C por 48 horas.



Conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de la muestra inicial del grupo control con asa calibrada de 1 μ l a las 48 horas.



Conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de la muestra final del grupo control con asa calibrada de 1 y 10 μ l a las 48 horas.



Conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de la muestra inicial del grupo TFD + F con asa calibrada de 1 μ l a las 48 horas.



Conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de la muestra final del grupo TFD + F con asa calibrada de 1 y 10 μ l a las 48 horas.



Conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de la muestra inicial del grupo TFD + NF con asa calibrada de 1 μ l a las 48 horas.



Conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de la muestra final del grupo TFD + NF con asa calibrada de 1 y 10 μ l a las 48 horas.



Ejecución de la tesista en la Clínica de Endodoncia de la FO- UNFV.

9.14. Anexo N

9.14.1. Constancia de donación de piezas dentarias premolares inferiores de consultorios dentales



Av. Los Próceres de Huandoy 5051. Urb. Parque Naranjal 2da. Etapa, Los Olivos.
Cel: 991 178 417 Tlf: 521 4117

CONSTANCIA DE DONACIÓN

Por medio de la presente se hace constar que:

La bachiller **KAMILA ALEJANDRA SILVA ELERA**, de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal, con la finalidad de ejecutar su Proyecto de tesis, recibió la donación de piezas dentarias premolares inferiores extraídas por motivo ortodóntico durante los meses de Abril a Junio del presente año el "Consultorio dental Listra".

Se otorga la presente para los fines que se estimen conveniente a los 02 días del mes de Julio del año 2024.

Atentamente,


Rafael Flores Saavedra
EGRESADO ESPECIALIDAD ORTODONCIA Y ORTODONCIA INTEGRAL
CIRUJANO DENTISTA
C O P 28301

FIRMA Y SELLO



Jr. José Santos Chocano #899 - Los Olivos.
Cel: 955 752 901 / 968 191 912

CONSTANCIA DE DONACIÓN

Por medio de la presente se hace constar que:

La bachiller **KAMILA ALEJANDRA SILVA ELERA**, de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal, con la finalidad de ejecutar su Proyecto de tesis, recibió la donación de piezas dentarias premolares inferiores extraídas por motivo ortodóntico durante los meses de Abril a Junio del presente año en la "Clínica dental M & T" para ser utilizadas en dicha investigación.

Se otorga la presente para los fines que se estimen conveniente a los 02 días del mes de Julio del año 2024.

Atentamente,


ROGER MANUELO TURCO
CIRUJANO DENTISTA
C.O.P. 22619

FIRMA Y SELLO

9.15. Anexo Ñ

9.15.1. Carta de aprobación del proyecto de tesis por el Comité de Ética de investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

ACTA DE APROBACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

N°064-04-2024

Los miembros del Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal integrado por la Mg. Carmen Rosa García Rupaya en calidad de Presidenta, Dr. Daniel Augusto Alvitez Temoche en calidad de miembro y Mg. Nimia Peltruche Adrianzen en calidad de miembro, se reunieron virtualmente para evaluar a solicitud del Director de la Unidad de Investigación, Innovación y Emprendimiento, el Proyecto de Investigación:

Título: "EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA DE USO ENDODÓNTICO CON Y SIN FIBRA DE POLÍMERO SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212; IN-VITRO"

Investigador: Bachiller SILVA ELERA KAMILA ALEJANDRA

Código de inscripción: 064-04-2024

Proyecto de investigación: versión última de fecha 17 de abril de 2024

Luego de verificar el cumplimiento de los requisitos establecidos en el proyecto presentado por el bachiller Kamila Silva, y de acuerdo al Reglamento del Comité de Ética de la Universidad Nacional Federico Villarreal (Resolución R.N°: 6437-2019-UNFV) se concluye en el siguiente calificativo: **Favorable con Aprobación**

La aprobación considera el cumplimiento de los estándares de la Facultad y de la Universidad, los lineamientos científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio y la capacitación del equipo de investigación. En el caso de participación de seres humanos la confidencialidad de los datos y el ejercicio de la autonomía mediante la aplicación del consentimiento informado.

Los miembros del Comité de Ética suscribimos el presente documento:

Lima, 02 de mayo 2024

Mg. Carmen Rosa García Rupaya
Presidenta
Comité de Ética en Investigación

Mg. Nimia Peltruche Adrianzen
Miembro
Comité de Ética en Investigación

Dr. Daniel Alvitez Temoche
Miembro
Comité de Ética en Investigación

9.16. Anexo O

9.16.1. Constancia del Término de ejecución experimental en el servicio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la
Commemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

CONSTANCIA

LA QUE SUSCRIBE, Dra. Elizett Sierra Chávez, JEFA DEL LABORATORIO DE
MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO.

HACE CONSTAR:

Que la srta. **KAMILA ALEJANDRA SILVA ELERA**, identificada con DNI N°
76412401, egresada y bachiller de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional
Federico Villarreal, ha ejecutado el Proyecto de tesis titulado **“EFECTO
ANTIBACTERIANO DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA DE USO
ENDODÓNTICO CON Y SIN FIBRA DE POLÍMERO SOBRE *Enterococcus
faecalis* ATCC 29212. IN VITRO”** para optar el Título profesional de Cirujano Dentista;
desde el 01 de Octubre al 05 de Noviembre del 2024.

La tesista ejecutó su Proyecto de tesis bajo mi supervisión y autorización de
manera satisfactoria, demostrando eficiencia, puntualidad y responsabilidad desde su
inicio a fin en las instalaciones.

Para tal validez del caso firmo el presente documento, a solicitud de la interesada para los
usos y fines convenientes.

Atentamente,

MINISTERIO DE SALUD
HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE

DRA. ELIZETT SIERRA CHAVEZ
JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA
INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
CMP. 48160 RNE. 2758R

FIRMA Y SELLO

El Agustino, 26 de Noviembre del 2024

9.17. Anexo P

9.17.1. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	MÉTODO	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p>¿Cuál es el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>1. Determinar el recuento de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) inicial y final del grupo terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero, grupo terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero y grupo control.</p> <p>2. Comparar el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero, terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero y grupo control sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 a través del recuento de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) inicial y final.</p>	<p>Existe diferencia significativa en el efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica de uso endodóntico con y sin fibra de polímero sobre <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.</p>	<p>Variable Dependiente: Efecto antibacteriano de la terapia fotodinámica</p> <p>Variable Independiente Técnicas de desinfección en conductos radiculares:</p> <p>1. Terapia fotodinámica de uso endodóntico con fibra de polímero.</p> <p>2. Terapia fotodinámica de uso endodóntico sin fibra de polímero.</p> <p>3. Hipoclorito de sodio (NaOCl) al 3.5% activado con irrigación ultrasónica pasiva (IUP)</p>	<p>Unidades formadoras de colonias (UFC)</p> <p>Longitud de onda (nm)</p> <p>Potencia (watts)</p> <p>Energía (J)</p> <p>Tiempo de pre irradiación (minutos)</p> <p>Tiempo de irradiación (segundos)</p> <p>Concentración del fotosensibilizador (%)</p> <p>Concentración del irrigante (%)</p>	<p>Tipo de investigación: Prospectivo, longitudinal, comparativo</p> <p>Enfoque: cuantitativo</p> <p>Diseño: Experimental</p> <p>Instrumento: Ficha de recolección de datos con los valores del recuento bacteriano inicial y final a la aplicación de protocolos de desinfección antibacteriana.</p>	<p>Población: Estuvo conformada por 30 premolares inferiores monorradiculares de humanos extraídos por motivo ortodóntico.</p> <p>Muestra: El tamaño de muestra se calculó mediante la fórmula para comparar medias con parámetros de un estudio previo. El tamaño mínimo calculado fue de 9 piezas dentarias, por ello en la investigación se trabajó con 10 piezas dentarias por grupo de estudio.</p>