

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

Comparación *in vitro* de la desinfección en conductos radiculares humanos contaminados con *Enterococcus faecalis* con irrigación convencional aplicando hipoclorito de sodio al 5.25% y clorhexidina al 2% versus su combinación con terapia foto activada por láser

Proyecto de Investigación

Karen Desiree Straka Echeverría

Odontología

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Odontólogo

Quito, 8 de julio de 2019

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

COLEGIO COCSA

HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Comparación *in vitro* de la desinfección en conductos radiculares humanos contaminados con *Enterococcus faecalis* con irrigación convencional aplicando hipoclorito de sodio al 5.25% y clorhexidina al 2% versus su combinación con terapia foto activada por láser

Karen Desiree Straka Echeverría

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Dra. Johanna Monar
Especialista en Endodoncia

Firma del profesor

Quito, 8 de julio de 2019

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Karen Desiree Straka Echeverría

Código: 00127841

Cédula de Identidad: 1713718136

Lugar y fecha: Quito, 8 de julio de 2019

DEDICATORIA

A Dios, quien me acompañó cada día durante estos cinco años; y a aquellos ángeles que Él envió para darme fuerzas y guiar mi camino.

“Lo que he logrado no merece más que silencio y olvido, pero lo que Dios ha hecho por mí es digno de un recuerdo eterno y agradecido” – Joseph Hall

RESUMEN

El objetivo principal de la endodoncia es la descontaminación completa del sistema de conductos radiculares. A pesar de todo el esfuerzo, ningún diente endodóncicamente tratado es 100% libre de microorganismos y puede correr el riesgo de infecciones secundarias o persistentes. Dentro de los protocolos tradicionales de preparación mecánica y desinfección química, se ha incorporado el uso de terapias foto activadas con láser para brindar una desinfección adicional. La combinación de ambos protocolos ha logrado una reducción bacteriana de un 90% a un 98%, logrando mejores pronósticos en Endodoncia.

Palabras clave: Láser en Endodoncia, *Enterococcus faecalis*, Hipoclorito de sodio, Retratamientos, Periodontitis Apical, Infecciones persistentes, Re infecciones

ABSTRACT

The main objective in Endodontics is to obtain a correct and maximum decontamination throughout the whole system of root canals. In spite of all the efforts, none of the teeth with root canal treatments are 100% free of microorganisms and they can run the risk of undergoing secondary or persistent infections. Within the traditional protocols of mechanic preparation and chemical disinfection of these treatments, the use of photo-activated therapies using laser have been suggested to give additional cleaning. The combination of both protocols has achieved a reduction of bacterial burden from 90% to 98%, giving better prognosis in Endodontics.

Key words: Laser in Endodontics, *Enterococcus faecalis*, Sodium hypochlorite, Retreatment, Apical Periodontitis, Persistent infections, Reinfections

TABLA DE CONTENIDO

1.	Introducción	11-17
	1.1. Planteamiento del problema	11-14
	1.2. Justificación	14-16
	1.3. Objetivo General.....	16
	1.4. Objetivos Específicos.....	16-17
	1.5. Hipótesis.....	17
2.	Desarrollo del Tema.....	17-38
	2.1. Marco Teórico	17-38
	2.1.1. Estructura Dental.....	17-19
	2.1.1.1. Esmalte.....	17-18
	2.1.1.2. Dentina.....	18
	2.1.1.3. Pulpa	18-19
	2.1.2. Estructura Periodontal	19
	2.1.2.1. Cemento	19
	2.1.2.2. Ligamento Periodontal	19
	2.1.2.3. Hueso Alveolar	19
	2.1.3. Patología Dental	19-22
	2.1.3.1. Pulpitis	20
	2.1.3.1.1. Respuesta pulpar química y mecánica	20-21
	2.1.3.2. Necrosis	21
	2.1.3.3. Enfermedad periapical – periodontitis	21-22

2.1.3.3.1.	Respuesta periapical	22
2.1.3.4.	Abscesos apicales	22
2.1.4.	Endodoncia	23-28
2.1.4.1.	Principios de limpieza y conformación	24
2.1.4.2.	Preparación mecánica	24-25
2.1.4.3.	Desinfección química	25
2.1.4.3.1.	Hipoclorito de sodio	26
2.1.4.3.1.1.	Mecanismo de acción	26-27
2.1.4.3.2.	Clorhexidina	27
2.1.4.3.2.1.	Mecanismo de acción.....	27-28
2.1.5.	Láser	28-32
2.1.5.1.	Desinfección foto activada	30
2.1.5.1.1.	Mecanismo de acción	31
2.1.5.2.	Efecto del láser en las bacterias	31-32
2.1.5.3.	Efecto del láser en las paredes dentinarias	32
2.1.5.4.	Efecto del láser con las sustancias foto sensibles	32
2.1.6.	Obturación final	33
2.1.7.	Fracaso endodónico y retratamiento.....	33-35
2.1.8.	Microbiología endodónica	35-38
2.1.8.1.	<i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Cándida albicans</i>	37-38
3.	Metodología	38-42
3.1.	Tipo de Estudio	38

3.2. Muestra.....	38
3.2.1. Criterios de Inclusión.....	38
3.2.2. Criterios de Exclusión.....	39
3.2.3. Grupos Experimentales	39
3.3. Lista de Materiales	39-40
3.4. Procedimiento	41-42
3.4.1. Obtención de muestra	41
3.4.1.1. Preparación de la muestra	41
3.4.2. Tratamiento de endodoncia y estudio de muestras	41-42
3.5. Análisis Estadístico	42
Referencias Bibliográficas.....	43-45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No. 1 Grupos experimentales de las muestras de premolares humanos.....	39
--	----

1. INTRODUCCION

1.1. Planteamiento del problema

Según la Organización Mundial de la Salud, entre las enfermedades bucodentales más prevalentes, está la caries dental en dientes permanentes. Los últimos estudios realizados en el 2016 mostraron que esta enfermedad transmisible tiene una morbilidad alta, afectando a la mitad de la población mundial (WHO, 2019). La caries dental puede definirse como una lesión infecciosa y transmisible generada por la pérdida del equilibrio entre el tejido dental y el biofilm oral (Fejerskov & Kidd, 2008). Este proceso progresivo e irreversible destruye los tejidos dentarios mediante la interacción simultánea de cuatro elementos principales: la presencia de microorganismos, la disponibilidad del sustrato, el tiempo de exposición, y la susceptibilidad del hospedador. Existen factores secundarios como: exposición al flúor, genética, saliva, alimentación, higiene oral, dieta, niveles socioeconómicos y culturales, etc. (Barrancos, et al., 2006). Cuando se tiene un desequilibrio en el medio oral, las bacterias causantes de las caries pueden encontrar varias rutas posibles para la infección de la dentina coronal y radicular; las cuales pueden extenderse hacia la pulpa dental a través de la invasión de los túbulos dentinarios (Fouad, 2009). Por esta razón, la caries dental se conoce como la principal causa de la enfermedad pulpar, seguida por eventos de traumatismo. Los datos epidemiológicos sistémicos sugieren que el trauma facial tiene una frecuente ocurrencia causando lesiones en los dientes. Los traumas dentoalveolares ocurren principalmente en niños de 7-10 años de edad por caídas o accidentes (Ingle, et al., 2008). Los incisivos centrales superiores sufren el 80% de las injurias, seguidos por los incisivos laterales superiores e incisivos inferiores. Por su parte, los traumas dentoalveolares incluyen: la infracción, fractura de

corona complicada (0.9-13%) (Ingle, et al., 2008) y no complicada, fractura de corona y raíz, fractura de raíz, concusión, subluxación, luxación lateral, intrusión, extrusión y avulsión. El trauma más común en dentición temporal es la luxación, mientras que fracturas coronales es el trauma más común en dentición permanente. Dada la extensa cantidad de traumas dentoalveolares, es indispensable la determinación de la afectación dentino-pulpar para así evaluar posibles complicaciones a largo plazo (Cohen & Hargreaves, 2016).

Cuando ya existe una afectación pulpar, se procede a realizar un tratamiento endodóncico. Según la Asociación Americana de Endodoncistas, un tratamiento de conducto se requiere cuando se genera una inflamación del tejido pulpar (pulpitis) o una muerte pulpar por infección o trauma (necrosis). Este tratamiento consiste en la remoción del paquete vásculo-nervioso del diente, la limpieza y desinfección de los tejidos internos del diente para ser sellado posteriormente con un material hermético, conocido como gutapercha. El objetivo principal de un tratamiento endodóncico es la desinfección química y mecánica efectiva de los sistemas de conductos intraradiculares, la cual va a determinar el éxito del mismo e influir en la prevención de reinfecciones; que caso contrario, pueden llevar a la pérdida del diente.

Es importante recalcar, que el tratamiento de endodoncia se lleva a cabo tras una combinación biomecánica de procedimientos. Es decir, existe en el procedimiento la instrumentación mecánica con instrumentos manuales o rotatorios, y la desinfección química con soluciones específicas (Balakrishna, et al., 2017). Sin embargo, no hay que

obviar un componente elemental para el éxito de un tratamiento: la respuesta biológica del hospedador. Se han realizado varios estudios que muestran el constante fracaso de los tratamientos de endodoncia por reinfecciones. Estos fracasos están atribuidos a varias bacterias facultativas gram positivas anaerobias, como lo es la bacteria *Enterococcus faecalis*; y también a hongos, como la *Cándida albicans* (Mohan et al., 2016). El principal problema de lesiones post-tratamiento es la persistencia de bacterias dentro de los conductos, en especial cuando hay una instrumentación incorrecta y una irrigación con líquidos desinfectantes inadecuados durante el procedimiento (Balakrishna, et al., 2017).

Para el tratamiento de conductos, el irrigante principal es el hipoclorito de sodio (NaOCl) en concentraciones variantes entre 0.5% a 5.25% (Samiei, et al., 2016). La solución de NaOCl tiene efectos desinfectantes y proteolíticos (Balakrishna, et al., 2017). Esta solución se conoce por su propiedad antimicrobiana que elimina a la mayoría de bacterias durante el contacto directo, así como su capacidad de disolver tejido orgánico. Lamentablemente, existe evidencia en la que el hipoclorito de sodio no es efectivo contra la bacteria *E. faecalis*: la bacteria más asociada a los fracasos del tratamiento endodónico (Balakrishna, et al., 2017). La alta virulencia de esta bacteria se explica por su resistencia a medicamentos intraconducto y por su habilidad de sobrevivir como un organismo único en ausencia de sinergismo bacteriano (Mohan et al., 2016). Así, la *E. faecalis* es capaz de crear biofilm dentro del conducto, haciendo más complicado su total eliminación (Mohan et al., 2016). Es por esto que el desbridamiento completo y la eliminación total de bacterias es extremadamente difícil, sino imposible, dada la

complejidad anatómica de los conductos (Samiei, et al., 2016). Si bien es cierto, el hipoclorito de sodio es el mejor irrigante, considerado como el “gold-standard” en la endodoncia (Ghorbanzadeh, et al., 2016). Sin embargo, cabe mencionar a la clorhexidina como una segunda opción para una desinfección química por su efecto antibacterial (Samiei, et al., 2016).

Durante los años, se han intentado mejorar las técnicas de instrumentación y mejorar medicamentos o irrigantes intraconducto, sin embargo, persisten los reportes de fracasos en la endodoncia (Mohan et al., 2016).

1.2. Justificación

El principal objetivo de la endodoncia es obtener un diente lo más antiséptico posible posterior a una situación de pulpitis, necrosis e infecciones. A pesar de todos los intentos por conseguir tratamientos endodóncicos que no sufran reinfecciones, los profesionales se enfrentan con fracasos del tratamiento en un 20%. Una de las principales causas de esto, es la persistencia de varios microorganismos. En estos casos, se opta por un retratamiento para así intentar nuevamente combatir las bacterias persistentes. Un ejemplo de éstas, es la bacteria *Enterococcus faecalis*, que tiene un rol importante en la etiología de lesiones perirradiculares persistentes. Se ha mostrado en varios estudios que el *E. faecalis* está presente en un 24 a 77% de casos con lesiones periradiculares postratamiento (Samiei, et al., 2016).

Por el alto índice de fracaso, se han propuesto varias técnicas para lograr una mejor desinfección del sistema de conductos radicular; con el fin de tener mejores resultados a largo plazo y evitando en lo posible mayor manipulación y desgaste dental. Una de las técnicas estudiadas, es el uso de láser combinados con sustancias fotosensible, conocido como la terapia foto-activada. Esta última se ha convertido en una gran alternativa para la eliminación del biofilm dentro de los conductos (Garcéz, et al., 20017).

Al comparar las terapias endodóncicas convencionales con las terapias de foto-activación, se ha mostrado que la reducción de bacterias es de un 90% a 95%, respectivamente. Afortunadamente, la combinación de ambas terapias en un tratamiento mostró reducir bacterias en un 98% (Garcez et al., 2007). A pesar de que ningún protocolo de irrigación otorga el 100% de eliminación bacteriana dentro de los conductos, estos nuevos métodos de desinfección se han implementado para complementar aquellos tratamientos convencionales de irrigación dando una desinfección adicional (Vaid, et al., 2017). Ya existen varios estudios donde se muestra que la combinación de irrigación con hipoclorito de sodio y terapia de foto-activación brindan una máxima desinfección (Vaid, et al., 2017). Por ejemplo, en estudios realizados por Motriz et al. se encontró una reducción del 99.16% de bacterias, incluyendo cepas de los microorganismos responsables de los fracasos endodónticos (entre estas el *E. faecalis* y *E. coli*). Por otro lado, Gutknecht et al. promediaron una reducción de *E. faecalis* del 99.92%, y Fonseca et al. reportaron una reducción bacteriana del 99.9% después de un tratamiento de conducto utilizando la foto-activación. Este método con láser tiene la

capacidad de mejorar la desinfección después de una instrumentación mecánica e irrigación clásica (Bago & Anic, 2014).

Estos hallazgos con cultivos negativos en los conductos al momento de la obturación, han incrementado el éxito de los tratamientos endodóncicos en un 94%. Por lo tanto, los pronósticos favorables incrementan y se van dejando las obturaciones con colonias positivas que conllevaban a fracasos por curaciones con infecciones persistentes (Bonsor, et al., 2006).

1.3. Objetivo General

Comparar *in vitro* la desinfección en conductos radiculares contaminados con *E. faecalis* con el uso de hipoclorito de sodio al 5.25% solo e hipoclorito de sodio al 5.25% combinado con desinfección foto-activada, clorhexidina al 2% y clorhexidina al 2% combinada con desinfección foto-activada en dientes premolares uniradiculares humanos.

1.4. Objetivos Específicos

- Determinar el porcentaje de desinfección utilizando hipoclorito de sodio al 5.25% realizando cultivos microbiológicos del *E. faecalis*
- Determinar el porcentaje de desinfección utilizando hipoclorito de sodio al 5.25% combinado con desinfección foto-activada realizando cultivos microbiológicos del *E. faecalis*
- Determinar el porcentaje de desinfección utilizando clorhexidina al 2% realizando cultivos microbiológicos del *E. faecalis*

- Determinar el porcentaje de desinfección utilizando clorhexidina al 2% combinado con desinfección foto-activada realizando cultivos microbiológicos del *E. faecalis*

1.5. Hipótesis

La incorporación de la desinfección foto-activada combinada con el hipoclorito de sodio al 5.25% en tratamientos endodónticos convencionales incrementa la eliminación del *E. faecalis*.

2. DESARROLLO DEL TEMA

2.1. Marco Teórico

2.1.1. Estructura dental

Los dientes se componen de cuatro tejidos principales: esmalte, dentina, pulpa y cemento. Es muy importante conocer la estructura de estos tejidos para entender cuando un diente está sano y cuando se encuentra con una patología para tomar medidas tanto de prevención como de tratamiento (Hume & Mount, 1999). Por otra parte, el periodonto se conoce como el tejido que rodean y sostienen a la raíz del diente. El periodonto esta compuesto por cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar (Cui, 2011).

2.1.1.1. Esmalte

El esmalte, o la capa más superficial del diente es el tejido más duro del cuerpo que brinda protección a la dentina y resistencia durante la masticación (Cui, 2011). La corona del diente esta rodeada por esmalte, un tejido compuesto por hidroxiapatita o cristales

prismáticos que son producidos por células especializadas conocidas como los ameloblastos. Con el tiempo, el esmalte va madurando y previo a su erupción, los cristales de hidroxiapatita crecen mientras pierden agua y proteínas. Al final, el esmalte se compone de 85% material inorgánico, 12% de agua y 3% material orgánico (Hume & Mount, 1999).

2.1.1.2. Dentina

La dentina rodea y forma las paredes de la pulpa dental mediante sus túbulos dentinarios, prolongaciones odontoblásticas y la matriz dentinaria (Cui, 2011). La principal diferencia con el esmalte, es la alta cantidad de materia orgánica que tienen un rol vital durante la mineralización en la formación de la dentina durante toda la vida. La dentina es secretada por células derivadas del ectomesénquima, los odontoblastos, quienes tienen su cuerpo apegado a la pulpa. Mientras secretan la matriz, dejan un tubo fino y continuo, conocido como la Fibra de Thomas. En el adulto, el proceso o la fibra está llena de líquido tisular y genera mayor permeabilidad: dándole mayor capacidad para transportar líquidos, químicos y bacterias. Cuando el diente sufre accidentes, desgastes o agresiones, se deposita una dentina reparativa o terciaria con el fin de proteger al diente (Hume & Mount, 1999).

2.1.1.3. Pulpa

Finalmente, la pulpa es el núcleo central del diente que contiene tejido conjuntivo mucoso laxo con vasos sanguíneos, fibras nerviosas, y linfa (Cui, 2011). La pulpa está formada por el cuerpo de los odontoblastos en su exterior, células mesenquimatosas, y

células de defensa. La pulpa tiene como principal función nutrir a los odontoblastos (Hume & Hount, 1999).

2.1.2. Estructura periodontal

2.1.2.1. Cemento

El cemento es una capa de tejido duro que rodea a la dentina radicular (Cui, 2011). Este tejido es muy parecido al hueso, formado por la calcificación de proteínas secretadas por los cementoblastos, derivadas del ectomesénquima. El cemento contiene fibras de colágeno del ligamento periodontal, uniéndose así con el hueso adyacente (Hume & Mount, 1999).

2.1.2.2. Ligamento periodontal

El ligamento periodontal que consta de tejido conectivo fibroso denso debe estar en buenas condiciones ya que es una barrera muy eficaz contra el paso de bacterias desde la cavidad oral hacia los tejidos que rodean el diente (Cui, 2011; Hume & Mount, 1999).

2.1.2.3. Hueso alveolar

Finalmente, el hueso alveolar es parte de los huesos maxilares y es el encargado de sostener y proteger a la raíz dental (Cui, 2011).

2.1.3. Patología dental

La patología principal del diente es conocida como la caries dental. Durante los años la caries ha sido sujeta a muchas teorías sobre su etiología, sin embargo no ha cambiado su

principal origen bacteriano (Hume & Mount, 1999). Las lesiones cariosas tienen varios estadios, determinados por el tejido dental al cual están afectando. La lesión inicial o lesión de esmalte es provocada por una desmineralización del tejido la cual puede ser remineralizada quedando la superficie intacta. En casos donde la lesión de esmalte no logra remineralizarse, esta progresa y alcanza la dentina subyacente. El tamaño de la lesión aumenta y cuando el desequilibrio persiste, la lesión incipiente se fractura por una disolución de cristales, provocando una cavitación. En este punto, la remineralización se vuelve casi imposible y el complejo dentino-pulpar empieza a comprometerse. En las zonas de desmineralización y debajo a estas, las bacterias comienzan a colonizar produciendo cambios de colores y cambio de textura dentinaria (Hume & Mount, 1999). Al no poderse defender ni lograr sellar los túbulos como sucedería en una remineralización o esclerosamiento, el tejido sufre lesiones agresivas y la pulpa comienza a sufrir daños irreversibles (Hume & Mount, 1999).

2.1.3.1. Pulpitis

La pulpitis es un término clínico e histológico para describir una inflamación pulpar por causas mecánicas, físicas, químicas, térmicas o eléctricas (Hume & Mount, 1999). Mientras la enfermedad pulpar progresa, la inflamación se vuelve irreversible y el único tratamiento es la remoción de la pulpa (Cohen, 2016).

2.1.3.1.1. Respuesta pulpar química y mecánica

Cuando la pulpitis irreversible se presenta sintomática existe un dolor intermitente y espontáneo, o el dolor se presenta por cambios bruscos de temperatura, especialmente a

estímulos fríos. Este dolor aumenta y es prolongado aun cuando el estímulo es retirado. El dolor se puede presentar como agudo, localizado, difuso o referido (AAE, 2009). Radiográficamente, no hay cambios óseos, pero si hay un engrosamiento del espacio del ligamento periodontal. A su vez, el diagnóstico de una pulpitis irreversible asintomática se basa en hallazgos clínicos y radiográficos ya que el paciente no refiere molestia alguna (Cohen, 2016).

2.1.3.2. Necrosis

La necrosis indica la muerte de la pulpa dental, la cual no va a tener repuesta a pruebas pulpares (AAE, 2009). Cuando existe una necrosis, el suministro sanguíneo se corta y los nervios pulpares no son funcionales. Generalmente, la necrosis se genera cuando una pulpitis irreversible sintomática o asintomática no se resuelven a tiempo. Si la pulpa se vuelve completamente necrótica esta es asintomática hasta que hay una extensión de la enfermedad a los tejidos perirradiculares. El diente no responde a exámenes eléctricos ni térmicos, sin embargo, a veces al calor prolongado si puede haber respuesta por los restos de fluidos o gases en el espacio pulpar que se expanden al periodonto (Cohen, 2016). La muerte pulpar permite la invasión y colonización bacteriana, generando una severa contaminación e infección dentro de los espacios de los conductos radiculares (Hume & Mount, 1999).

2.1.3.3. Enfermedad periapical – periodontitis

La periodontitis hace referencia a la inflamación del periodonto y por su localización periapical, se denomina periodontitis apical (AAE, 2009). Posterior a una necrosis, las

bacterias crecen en los canales y los productos bacterianos se extienden al espacio del ligamento periodontal, causando síntomas a la percusión o dolor espontaneo (Cohen, 2016). Esta colonización produce una inflamación perirradicular manifestada radiográficamente como una lesión radiolúcida (Hume & Mount, 1999).

2.1.3.3.1. Respuesta periapical

Cuando la periodontitis apical es sintomática, hay síntomas clínicos como una respuesta dolorosa a la masticación, percusión o palpación. El diente puede o no responder a las pruebas de vitalidad. A diferencia, la periodontitis apical asintomática no produce síntomas clínicos, no hay respuesta a pruebas pulpares, pero si tiene hallazgos radiográficos dada la gran destrucción periodontal (Cohen, 2016).

2.1.3.4. Abscesos apicales

Finalmente, los abscesos apicales son reacciones inflamatorias a una infección o necrosis pulpar. El absceso apical agudo que se caracteriza por tener un inicio veloz, dolor espontaneo, sensibilidad a la presión, percusión y palpación, presencia de pus e hinchazón de tejidos adyacentes (tanto intraorales como extraorales). El diente no reacciona a pruebas de vitalidad pulpar y puede presentar movilidad. El absceso apical crónico es de inicio gradual, con una descarga intermitente de pus mediante un tracto sinuoso. No hay síntomas ni respuesta a pruebas de vitalidad (AAE, 2009).

2.1.4. Endodoncia

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

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

La endodoncia incluye, mas no se limita: al diagnóstico diferencial y el tratamiento de dolor oro-facial de origen pulpar y perirradicular; prevención de una enfermedad pulpar y terapia de vitalidad pulpar; extirpación pulpar y tratamiento de conductos; tratamiento de conductos en caso de periodontitis apical; retratamientos de conductos en caso de persistencia de periodontitis apical; cirugía endodóncica; blanqueamiento de dientes tratados endodóncicamente; tratamientos relacionados a restauraciones coronales que necesiten un muñón y/o poste que involucre el espacio del conducto radicular y/o

medidas relacionadas endodóncicamente con longitud de la corona y procedimientos de erupción forzada y tratamientos de dientes con traumatismo (Gulabivala & Yuan-Ling, 2014).

2.1.4.1. Principios de limpieza y conformación

La meta principal en una endodoncia está dirigida a la periodontitis apical al desinfectar y sellar el sistema de conductos radiculares (Ghorbanzadeh, et al., 2016). Es importante recalcar que el orden correcto para este procedimiento es la conformación de los conductos y una limpieza posterior, ya que la primera va a permitir tener conductos amplios para una mejor acción de irrigantes desinfectantes dentro de la dentina infectada. Los microorganismos presentes pueden ser eliminados tempranamente en un procedimiento, sin embargo aquellos que han penetrado áreas inaccesibles de los conductos formando biofilm fomentan o mantienen una periodontitis apical. Es por esto que las bacterias deben ser eliminadas posterior a una preparación mecánica del conducto (Cohen, 2016).

2.1.4.2. Preparación mecánica

El objetivo mecánico ideal de instrumentación es que todas las superficies del conducto sean preparadas para lograr, en lo posible, desinfectar el sistema de conductos aun en lugares difíciles de acceder (Ghorbanzadeh, et al., 2016). Sin embargo, hay que evitar una sobre preparación para no debilitar la estructura radicular. Para lograr una desinfección óptima, la conformación del conducto es vital ya que se relaciona directamente con la remoción de pulpa y dentina infectadas, así como una creación de espacio necesario para

la transportación de irrigantes. Es por esto que el clínico debe tomar la mejor decisión en cuanto a estrategia, instrumentación y dispositivos para combatir las dificultades y lograr una preparación en forma, longitud y diámetro (Cohen, 2016).

2.1.4.3. Desinfección química

El uso de desinfectantes se realiza mediante una irrigación pasiva con agujas que han mostrado tener una cobertura de un milímetro de distancia de la misma. Al tener conductos conformados se puede incrementar el desbridamiento y la desinfección. Sin embargo, la limpieza de la región más apical sigue siendo complicada, en especial cuando hay casos de conductos estrechos o curvos (Cohen, 2016).

La hidrodinámica de la irrigación hace referencia al flujo, penetración e intercambio dentro del conducto y las fuerzas que se generan. Las distintas formas de irrigación contribuyen a llegar a una desinfección predecible, por lo tanto la descarga de irrigante es igual de importante como las características antibacteriales de las soluciones irrigantes. Como principio, los irrigantes deben cumplir con cuatro requisitos, el primero es la efectividad contra microorganismos anaerobios y facultativos tanto en su estado planctónico, como en biofilms. El irrigante debe inactivar las endotoxinas, ser una solución no tóxica para los tejidos vivos y no ser causa de reacciones anafilácticas (Cohen, 2016).

2.1.4.3.1. Hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio (NaOCl), es la solución irrigadora de elección para los tratamientos de endodoncia, dada su capacidad de disolver tejido necrótico, tejido vital, componentes orgánicos de la dentina y el biofilm (Cohen, 2016).

2.1.4.3.1.1. Mecanismo de acción

Cuando el hipoclorito de sodio entra en contacto con el tejido, provoca una fragmentación y desintegración de péptidos y proteínas mientras forma moléculas de cloramina, esenciales para su efecto antimicrobiano. Tanto el pus como el tejido necrótico se disuelven, así permitiendo que el agente alcance y limpie las áreas infectadas (Cohen, 2016).

En el 2002, se reportó que el hipoclorito de sodio exhibe un balance dinámico por lograr cinco reacciones diferentes. La reacción de saponificación hace referencia a la degradación de grasa y tejido orgánico que genera sales de grasa y alcohol reduciendo la tensión superficial de la solución restante. La reacción de neutralización forma agua y sal a partir de proteínas lo que libera iones hidroxilo y creando un ambiente de pH más bajo. Tercero, la formación de ácido hipocloroso, un ácido débil, oxida y provoca degradación e hidrólisis de aminoácidos. El hipoclorito de sodio tiene una acción solvente que al formar cloraminas impide el metabolismo celular e inhibe enzimas bacterianas esenciales mediante una oxidación irreversible. Finalmente, esta solución tiene un pH alto de 11, es decir una base fuerte, que interfiere con la integridad de la membrana citoplasmática por

inhibición enzimática, alteraciones del metabolismo celular, y degradación de fosfolípidos (Cohen, 2016).

2.1.4.3.2. Clorhexidina

La clorhexidina (CHX) fue desarrollada en primera instancia como una crema antiséptica para el tratamiento general de infecciones en el cuerpo humano. Poco a poco, ésta se introdujo como irrigante y medicamento endodóncico. La molécula de la clorhexidina tiene un pH entre 5.5 y 7; es muy estable y es capaz de solubilizarse en agua (Cohen, 2016). El uso del gluconato de clorhexidina para irrigar los conductos se sugirió por su efecto antibacterial, su sustentividad, y leve citotoxicidad. Sin embargo, no es el irrigante de elección por su incapacidad de eliminar tejido necrótico y tampoco remover el barrido dentinario; sobre todo por el reporte de casos de reacciones alérgicas del paciente (Samiei, et al., 2016).

A pesar de sus cualidades, en varios estudios la clorhexidina no logra superar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio, a pesar de su combinación con la desinfección foto activada (Samiei, et al., 2016).

2.1.4.3.2.1. Mecanismo de acción

Por su carga catiónica, la clorhexidina se une a las superficies con cargas negativas presentes en las bacterias, así destruyendo sus paredes celulares y haciéndolas muy permeables. Esta sustancia tiene un amplio espectro antibacterial: actuando contra bacterias gram positivas y gram negativas, así como levaduras. Dependiendo de su

concentración, la CHX puede ejercer efectos bacteriostáticos y bactericida. En concentraciones altas no solo es bactericida – con lo cual destruye las membranas celulares y precipita el citoplasma, sino que también actúa como detergente. En bajas concentraciones, esta tiene un efecto bacteriostático, causando una filtración de sustancias con bajo peso molecular hacia el exterior de la célula bacteriana hasta causar un daño permanente (Cohen, 2016).

Una de las características principales de la CHX es la sustantividad. Su naturaleza catiónica facilita que sustancias aniónicas presentes en la mucosa oral y en el tejido dentario lo absorban. Esta absorción por parte de los dientes tiene una reacción reversible, por lo tanto se libera y tiene actividad antimicrobiana prolongada. La sustantividad va a depender de la concentración, donde una concentración del 4% va a tener mayor sustantividad que una concentración de 0.2% (Cohen, 2016).

Las concentraciones utilizadas normalmente varían entre 0.12% y 2%, siendo muy poco tóxicas para los tejidos, tanto localmente como sistémicamente. Se ha mostrado que la CHX promueve la curación de heridas posquirúrgicas y es bien tolerada por tejidos periapicales tejidos gingivales (Cohen, 2016).

2.1.5. Láser

El láser es muy utilizado en odontología incluyendo el láser diodo, Nd: YAG, erbio y dióxido de carbono; produciendo una radiación en un espectro electromagnético infrarrojo, tanto a distancias lejanas como cercanas. En el área de endodoncia, el láser ha

sido propuesto para mejorar la eficacia de las soluciones irrigantes. Muchos estudios muestran que los láser tienen habilidades de limpieza y son efectivas para desinfectar los conductos radiculares. La longitud de onda de 2940nm del láser Er:YAG ha mostrado tener una alta absorción en agua y una alta afinidad por la hidroxiapatita, haciéndolo el más adecuado para el tratamiento de conductos (Cohen, 2016). La técnica con erbio penetra y elimina las bacterias por su capacidad de absorción a diferentes longitudes de onda de luz dentro de la dentina (Cohen, 2016). El ErCrYSGG y Er:YAG son los láser que se utilizan para la irrigación activada ya que tienen longitudes de onda en la región media del infrarrojo y es bien absorbida en el desinfectante hipoclorito de sodio. La luz del láser se introduce en el conducto mediante una fibra óptica o un brazo articulado a la pieza de mano mediante una punta, lo más cerca del ápice radicular (1-2 milímetros de la longitud de trabajo), o solamente en la cámara pulpar llena de irrigante. Estas dos técnicas agitan y activan el irrigante en todo el sistema de conductos (Olivi, et al., 2016).

La energía de láser, por tanto, se utiliza como un agitador y activador para las soluciones irrigantes a diferentes niveles: molecular, desinfección foto activada, irrigación láser activada, entre otras (Olivi, et al., 2016). Por su parte, la irrigación láser activada está indicada para la remoción del barrido dentinario en menor tiempo. El mecanismo de acción se basa en la generación de cavitaciones con expansión e implosiones de fluidos. Bergmans y cols. concluyeron que el uso de la irradiación láser Nd: YAG es un posible complemento para los protocolos de desinfección, dadas las propiedades bactericidas del láser que pueden dar efecto más allá de un milímetro de la dentina. A pesar de todas estas

ventajas, la exposición del láser directo aun no puede combatir con patógenos endodóncicos que crecen como biofilms en la dentina (Cohen, 2016).

El uso de estos láseres de baja potencia han demostrado ser seguros para los tejidos del cuerpo, y la temperatura que emiten es muy baja – el calor producido es proporcional al tiempo de aplicación. Por lo tanto, se debe hacer aplicaciones por intervalos, dejando que los tejidos se enfríen. Los láseres son muy útiles en conductos con curvaturas o estructuras delta apicales, ayudando a la desinfección de estas áreas complicadas, que en métodos convencionales no logran ser topados (Samiei, et al., 2016).

2.1.5.1. Desinfección foto activada

La terapia fotodinámica o terapia foto activada, tiene una gran aplicación endodóncica por la efectividad antimicrobiana. El principio de la terapia fotodinámica antimicrobial es un procedimiento de dos pasos que involucra la introducción de un fotosensibilizador con actividad antimicrobiana (al tejido infectado) seguido por una iluminación de luz o la irradiación al tejido fotosensibilizado (Olivi, et al., 2016). Estos dos pasos generan un efecto toxicidad fotoquímica a una célula diana para su lisis posterior. Esto se logra por la liberación de radicales activados y oxígeno libre que dan un efecto bactericida (Olivi, et al., 2016). Es imprescindible que se realicen estos dos pasos en conjunto ya que juntos tienen el sinergismo para producir una acción antibacteriana (Cohen, 2016). El láser no tiene un efecto directo con la superficie de la dentina, por lo tanto eliminando cualquier efecto colateral indeseado (Olivi, et al., 2016).

2.1.5.1.1. Mecanismo de acción

La luz láser genera diferentes efectos cuando es absorbida o difundida en el tejido diana. Primero, el efecto foto térmico es resultado de una irradiación directa con láser en las paredes de la dentina. En técnicas convencionales, esto descontamina y remueve el barrido dentinario. Segundo, el efecto foto químico se produce por la activación de sustancias fotosensibles introducidas en el conducto y responsables de los efectos antibacterianos de la desinfección foto activada. Esto no tiene una irradiación ni interacción directa con la dentina. Tanto el efecto foto térmico como el efecto acústico foto mecánico, activan a los irrigantes comunes utilizados en endodoncia sin interactuar con la dentina mientras los líquidos están presentes en el conducto (Olivi, et al., 2016).

Dependiendo de la longitud de onda y la técnica utilizada, el láser interactúa a diferentes niveles y con diferentes sustancias. Estas incluyen: bacterias (en formas agregadas, planctónicas o biofilm), soluciones de tintes foto sensibilizadores, dentina (barrido dentinario y remanentes de pulpa), agua de las soluciones irrigadoras (Olivi, et al., 2016).

2.1.5.2. Efecto del láser en las bacterias

Las diferentes longitudes de onda tienen efectos directos distintos en la lisis de la pared de la célula bacteriana. Las bacterias gram negativas son fácilmente eliminadas, con menor energía y menor tiempo comparado con las bacterias gram positivas (Olivi, et al., 2016). La desinfección foto activada libera oxígeno para destruir las membranas y el ADN de las bacterias mediante una reacción de oxidación. El resultado final es la

inactivación del sistema de transporte de membranas, la inhibición de actividad enzimática y la peroxidación de lípidos (Balakrishna, et al., 2017).

2.1.5.3. Efecto del láser en las paredes dentinarias

El efecto térmico del láser utilizado para el efecto antibacterial debe ser controlado para evitar daños en las paredes de la dentina. Toda radiación láser utilizada en conductos secos pueden producir alteraciones morfológicas de la superficie dental por efectos térmicos a cualquier longitud de onda. Sin embargo, el uso de sustratos contribuye a un efecto lítico sobre las células bacterianas (Olivi, et al., 2016). A su vez, el láser puede remover la superficie dentinal infectada y retirar el barrido dentinario presente posterior a la preparación mecánica (Schoop, et al., 2002).

2.1.5.4. Efecto del láser con las sustancias foto sensibles

Las longitudes de onda del láser rojo o cercano a este actúan como foto activadores de una reacción química para un compuesto específico que libere elementos tóxicos contra el tejido diana. Las sustancias fotosensibles como el azul de metileno, azul de toluidina, cloruro de tolonio y verde de indocianina, aumentan la sensibilidad bacteriana ante una activación de luz láser, dada la producción de oxígeno libre durante la reacción foto química. En presencia de oxígeno media una toxicidad celular a cada tejido que tenga afinidad por el fotosensibilizador (Olivi, et al., 2016). El fin de las sustancias fotosensibles es unirse a las membranas de bacterias u hongos para así activarse con el láser y destruir a estos microorganismos (Xhevdet, et al., 2014).

2.1.6. Obturación final

La obturación final de un diente se realiza posterior a la conformación y desinfección del sistema de conductos intraradiculares. La obturación se realiza en el espacio tridimensional con un sellado impermeable para evitar filtraciones apicales o a nivel coronal. El sellado impermeable es clave para el éxito del tratamiento, dado que las bacterias son la causa principal de inflamaciones perirradiculares persistentes causando fracasos endodóncicos. Una vez alcanzado el tamaño ideal de conformación, el conducto puede ser obturado siempre y cuando este completamente seco. El diente debe estar asintomático idealmente y completamente instrumentado, aunque pueda que un diente finalmente cese de síntomas al momento de la obturación final. Sjogren et al. encontraron que en un seguimiento de cinco años, el 94% de casos fueron exitosos en presencia negativa de cultivos bacterianos, mientras que solamente el 68% fueron exitosos cuando aun se encontraban cultivos bacterianos al momento de la obturación (Ingle, et al., 2008).

2.1.7. Fracaso endodóncico y retratamiento

Durante los últimos años, las expectativas de éxito en endodoncia han incrementado tanto para los profesionales como para los pacientes. Junto a la salvación de millones de dientes cada año viene también un porcentaje inevitable de tratamientos fracasados o no curados (Mohan, et al., 2016). La literatura habla de opciones de retratamiento para restaurar la salud de una patología periapical mediante tratamientos quirúrgicos y no quirúrgicos. Existen varios factores para el fracaso endodóncico: microorganismos, ubicación de la infección y la defensa del huésped. De todos estos factores va a depender

la decisión del tratamiento posterior, ya sea para salvar el diente o remitir a la extracción y colocación de implante (Ingle, et al., 2008).

Por ejemplo, en el caso de un tratamiento de una periodontitis apical crónica el índice de éxito es muy alto, a pesar de que el sistema de conductos esta altamente infectado y no todas las áreas son topadas por los instrumentos o efectivamente desinfectados con químicos. Los tratamientos fracasan cuando existe una inadecuada eliminación o reducción de carga biológica intraradicular (Garcez, et al., 2007). Sin embargo, esto no es necesariamente por negligencia del profesional sino por una complejidad del sistema de conductos que hace imposible su limpieza y obturación perfecta, aun con las nuevas tecnologías. Por estas razones, las infecciones pueden persistir o restablecerse. En casos raros, también pueden haber factores ubicados fuera del diente, en la área periapical inflamada, que impiden la curación de una periodontitis apical después de una endodoncia (Ingle, et al., 2008; Samiei, et al., 2016).

En resumen, existen seis posibles factores biológicos que conllevan a una radiolucidez asintomática recalcitrante: (1) infección intraradicular persistente en el sistema de conductos, (2) infecciones extraradiculares como una actinomicosis periapical, (3) cuerpos extraños por extrusión de material endodóncico, (4) acumulación de colesterol endógeno, (5) quistes verdaderos no asociados al conducto radicular, y (6) tejido de cicatrización después de la curación de una lesión (Ingle, et al., 2008).

El diagnóstico en un fracaso endodóntico se realiza a base de los siguientes criterios clínicos y radiográficos: presencia de signos y síntomas clínicos, crecimiento de una lesión perirradicular existente asociada al diente, desarrollo de una nueva lesión radiolúcida perirradicular, y la persistencia de una lesión perirradicular radiolúcida asociada a un diente que fue sometido a un tratamiento de conducto por lo menos cuatro años atrás (Gulabivala & Yuan-Ling, 2014).

Las indicaciones para un retratamiento de conducto no quirúrgico son las siguientes: ante un fracaso endodóntico se determina que la infección principal es de origen intraradicular y no hay compromiso del tejido dental restante, con fines protésicos cuando la actual obturación es de mala calidad, y cuando se sospecha una contaminación de la obturación por filtración o pérdida de restauraciones – aquí el propósito es la descontaminación del sistema de conductos con un nuevo sellado con material obturador y una restauración (Gulabivala & Yuan-Ling, 2014).

2.1.8. Microbiología endodóntica

Como se explicó anteriormente, la periodontitis apical es una enfermedad inflamatoria con etiología microbiana que infecta el sistema de conductos. Las infecciones endodónticas se desarrollan usualmente después de una necrosis pulpar o en algunos casos donde la pulpa se remueve para realizar un tratamiento. Las bacterias son los microorganismos mayormente implicados en la etiología de la periodontitis apical, sin embargo, no se excluye la presencia de hongos, virus y arquea. Las bacterias colonizan los sistemas de conductos y entran en contacto con los tejidos perirradiculares, formando

biofilms. Dado que el objetivo principal de la endodoncia es la prevención o curación de la periodontitis apical, es importante considerar su etiología; evitando la infección o reinfección de los tejidos (Torabinejad, et al., 2015).

En condiciones normales, la pulpa dental y la dentina son estériles y aisladas de microorganismos orales, sin embargo hay ocasiones en las que, tanto la pulpa como el periodonto se pueden exponer (caries, trauma, etc.). De la misma forma existe el proceso de anacoresis, mediante el cual los microorganismos son transportados por la sangre o la linfa a áreas de tejido afectado y establecen una infección. En los conductos esto es típico cuando existe una sobre instrumentación en periodos de bacteriemia (Torabinejad, et al., 2015).

Las infecciones endodóncicas se clasifican acorde a su ubicación anatómica, cuando esta es intraradiculares se subdivide en infecciones primarias, secundarias o persistentes según los microorganismos participantes. En las infecciones primarias, los microorganismos invaden y colonizan el tejido necrótico pulpar. En estas infecciones existe una naturaleza polimicrobial con dominancia de bacterias anaerobias obligadas. En general, las bacterias gram negativas son las más comunes en infecciones primarias asociadas a periodontitis apical y abscesos. Entre estas se encuentran las siguientes: *Dialister invisus* y *pneumosintes*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas endodontalis* y *gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *nigrescens*, *baroniaiae* y *tanneriae*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola* y *socranskii*. También hay presencia de bacterias gram positivas como *Actinomyces israelii*, *Filifactor alocis*, *Olsella uli*, *Parvimonas micra*,

Peptostreptococcus anaerobius y stomatis, Pseudoramibacter lyticus, Streptococcus anginosus y Propionibacterium propionicum y acnes (Torabinejad, et al., 2015).

En el caso de infecciones endodóncicas secundarias o persistentes, estas son causadas por microorganismos de las infecciones primarias que resistieron los procedimientos antimicrobianos intraconducto y lograron fortalecerse en periodos de privación nutricional. Estas infecciones tienen presencia de nuevos microorganismos que fueron introducidos durante la primera intervención mediante la placa dental, cálculo, caries, por filtración del dique de goma, contaminación de instrumentos, irrigantes, medicamentos intraconducto, restauraciones provisionales, fracturas o por aperturas realizadas para drenaje. En el caso de infecciones secundarias, las bacterias gram negativas son escasas porque estas se eliminaron en el tratamiento previo dada su sensibilidad a fuertes agentes oxidantes como el hipoclorito de sodio. Sin embargo, hay una alta ocurrencia de bacterias gram positivas como: *Streptococci*, *Lactobacilli*, *Enterococcus faecalis*, *O. uli*, *Parvimonas micra*, *P. alactoyticus*, y *Propionibacterium*. Esto indica que las bacterias gram positivas son más resistentes a tratamientos antimicrobianos y tienen mayor capacidad de adaptarse en ambientes instrumentados y medicados (Torabinejad, et al., 2015).

2.1.8.1. *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*

La bacteria *E. faecalis* es un coco gram positivo anaerobio facultativo frecuentemente encontrado en el conducto radicular de dientes tratados. Tiene una prevalencia entre 30-90% de los casos ya que los dientes tratados son nueve veces más propensos a refugiar este microorganismo que dientes con infecciones primarias. Por otro lado, el hongo *C.*

albicans tiene una prevalencia entre 3-18% en casos de dientes tratados, mientras que su presencia es esporádica en infecciones primarias. Los dos microorganismos tienen una serie de atributos que los permiten sobrevivir en conductos tratados, entre estos la resistencia a medicamentos intraconducto y su habilidad de formar biofilms, invadir túbulos dentinarios y fortalecerse en largos periodos de privación nutricional (Torabinejad, et al., 2015).

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de Estudio

El estudio que se va a realizar es de tipo experimental, *in vitro*, comparativo y descriptivo.

3.2. Muestra

En este estudio se van a utilizar 100 premolares uniradiculares de humano.

3.2.1. Criterios de Inclusión

- Dientes:
 - Sin caries
 - Sin restauraciones
 - Sin fractura
 - Sin tratamiento de endodoncia previa
 - Sin enfermedad periapical
 - Ápice cerrado

3.2.2. Criterios de Exclusión

- Dientes:
 - Con dos conductos o más
 - Conductos calcificados
 - Cámara calcificada
 - Con reabsorciones

3.2.3. Grupos Experimentales

Los 100 premolares se van a dividir en cinco grupos al azar:

Tabla No. 1 Grupos experimentales de las muestras de premolares humanos

Grupo Control (20 premolares)	Grupo A-I (20 premolares)	Grupo A-II (20 premolares)	Grupo B-I (20 premolares)	Grupo B-II (20 premolares)
Irrigación con suero fisiológico	Irrigación convencional con NaOCl 5.25%	Irrigación convencional con NaOCl + terapia foto activada (láser)	Irrigación convencional con CHX 2%	Irrigación convencional con CHX 2% + terapia foto activada (láser)

3.3. Lista de Materiales

- Ultrasonido (Woodpecker) y puntas estériles
- Regla milimetrada para la estandarización de muestras (Dentsply Maillefer)

- Marcador permanente (Pelikan)
- Micromotor (NSK) con disco de diamante
- Tubos de ensayo de vidrio
- Platos Petri con agar
- Limas Flexofile de primera seria No. 10, 15 y 20 (Dentsply Maillefer)
- Limas Protaper Manual SX, S1, S2, F1, F2 (Dentsply Maillefer)
- Suero Fisiológico (Eufar)
- Hipoclorito de Sodio (NaOCl 5.25% Supermaxi)
- Clorhexidina (CHX 2% Lira)
- EDTA 17% (Eufar)
- Azul de metileno (Merck)
- Biolase WaterLase IPlus 2.0 All-Tissue Laser
- Cepa de *Enterococcus faecalis*
- Incubadora (Pol-Eko Aparatura)
- Autoclave (Market Forge)
- Puntas de Irrigación (Monojet)
- Jeringas de 5mL
- Gasas estériles
- Conos de papel estériles (VDW/Alfred Betch GMBH)
- Guantes

3.4. Procedimiento

3.4.1. Obtención de muestra

Los dientes serán extraídos por motivos ortodónticos y por previa aceptación de los pacientes, estos serán donados para el presente estudio. Una vez realizada la exodoncia, los premolares serán sumergidos en suero fisiológico y mantenidos a cinco grados centígrados hasta el inicio del estudio.

3.4.1.1. Preparación de la muestra

Previo a su uso, los dientes serán higienizados utilizando ultrasonido sobre su superficie radicular para el retiro de tejidos duros o blandos que pudieron haber quedado adheridos. Se tomarán radiografías periapicales de cada premolar para determinar si tanto la cámara como el conducto están viables y cumplen con los criterios de inclusión y exclusión. A los dientes que cumplan con todos los criterios, se les realizará el corte de la corona clínica dejando a todas las muestras con una longitud de 16 milímetros desde el ápice anatómico, utilizando micromotor con disco de diamante.

3.4.2. Tratamiento de endodoncia y estudio de muestras

Los dientes seccionados será sometidos a una esterilización en tubos de ensayo con caldo de soya tripticasa por 15 minutos a 121 grados centígrados. Simultáneamente, se realizará la preparación de colonias de *E. faecalis* para ser inoculadas en las muestras. Para esto, se cultivará la bacteria por 24 horas a 35 grados centígrados en agar. Una vez que las muestras estén esterilizadas y la bacteria esté cultivada, se procederá a infectar las

muestras de todos los grupos, al sumergirlas en tubos de ensayo con una mezcla de caldo con *E. faecalis*.

Se realizará la preparación mecánica inicial, con la técnica crown-down, empezando con limas 10K-flexofile a una longitud de trabajo de 0.5mm del ápice. Se conformará el conducto hasta la lima 20K-flexofile manual y se proseguirá a utilizar limas Protaper manuales hasta la F2. Entre cada cambio de lima se irrigará el grupo control con suero fisiológico, el grupo A-I con irrigación convencional con NaOCl, el grupo A-II con irrigación convencional con NaOCl + terapia foto activada utilizando azul de metileno (láser), el grupo B-I con irrigación convencional con CHX 2%, y el grupo B-II con irrigación convencional con CHX 2% + terapia foto activada utilizando azul de metileno (láser). Al finalizar con la lima Protaper F2, se procede a realizar un protocolo de irrigación final respectivo para cada grupo, incluyendo EDTA 17% en todos los conductos para lubricar y remover el barrido dentinario. Se realizará una irrigación final en cada conducto con 3mL de irrigante seleccionado durante 3 minutos. Una vez finalizado, se tomará muestras del conducto conformado y desinfectado con puntas de papel estériles para realizar estudios microbiológicos en agar y así poder cuantificar la carga bacteriana de *E. faecalis*, y comparar la eliminación de la misma en cada grupo después de su respectivo tratamiento.

3.5. Análisis Estadístico

Con todos los datos obtenidos, se realizará un análisis estadístico descriptivo y se aplicara la prueba de ANOVA para comparar las medias de desinfección entre grupos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAE Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. (2009). JOE: 35(12); 1634.
- Bago Juric, I. and Anic, I. (2014). The Use of Lasers in Disinfection and Cleaning of Root Canals: a Review. *Act Stomatol Croat: 48(1):6-15*.
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4872808/pdf/ASC_48\(1\)_6-15.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4872808/pdf/ASC_48(1)_6-15.pdf)
- Balakrishna, N., Moogi, P., Kumar, G. V., Prashanth, B. R., Shetty, N. K., & Rao, K. R. (2017). Effect of conventional irrigation and photoactivated disinfection on *Enterococcus faecalis* in root canals: An *in vitro* study. *Journal of Conservative Dentistry : JCD, 20(2)*, 125–128. <http://doi.org/10.4103/0972-0707.212244>
- Barrancos Monney, J. & Barrancos, P.J. (2006). *Operatoria Dental: integracion clínica*. 4ta Edicion. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires. Argentina.
- Bonsor, SJ., Nichol, R., Reid, TMS. and Pearson, GJ. (2006). Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (An *in vivo* study). *British Dental Journal 2006:(6); 337-341*.
- Cui, D. (2011). *Histologia con correlaciones funcionales y clínicas*. Editorial Lippincott. Philadelphia, USA.
- Fejerskov, O. & Kidd, E. (2008). *Dental Caries the Disease and its Clinical Management*. Blackwell. 2nd Edition. UK.
- Fouad, A. (2009). *Endodontic Microbiology*. 1ra Ed. Editorial Wiley-Blackwell. USA.
- Garcez, A.S., Ribeiro, MS., Tegos, GP., Nunez, SC., Jorge, AOC. and Hamblin, MR. (2007) Antimicrobial Photodynamic Therapy Comined With Conventional Endodontic Treatment to Eliminate Root Canal Biofilm Infection. *Lasers in Surgery and Medicine 39: 59-66*.
- Ghorbanzadeh, A., Aminsobhani, M., Sohrabi, K., Chiniforush, N., Ghafari, S., Shamshiri, A. & Noroozi, N. (2016) Penetration Depth of Sodium Hypochlorite in Dentinal Tubules after Conventional Irrigation, Passive Ultrasonic Agitation and Nd: YAG Laser Activated Irrigation. *J Lasers Med Sci; 7(2): 105-111*.

- Gulabivala, K. & Yuan-Ling, NG. (2014) *Endodontics*. 4ta Edición. Editorial Mosby. UK.
- Hargreaves, K., Berman, L. & Rotstein, I. (2016). *Cohen's Pathways of the Pulp*. 11va Edición. Editorial Elsevier. Canadá
- Hume, W.R. & Mount, G.J. (1999) *Conservación y Restauración de la Estructura Dental*. 1ra Edición. Editorial Mosby. España.
- Ingle, J., Bakland, L. Baumgartner, J.C. (2008). *Ingle's Endodontics*. BC Decker. Canada.
- Kaiwar A, Usha H L, Meena N, Aswini P, Murthy CS. The efficiency of root canal disinfection using a diode laser: *In vitro* study. *Indian J Dent Rest* 2013; 24:14-8. <http://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2013;volume=24;issue=1;spage=14;epage=18;aulast=Kaiwar>
- Mohan, D.S. Maruthingal, R. Indira, D.D. Divakar, A.A. Al Kheraif, R. Ramakrishnaiah, BH Durgesh, S. Basavarajappa, J. John. (2016). Photoactivated disinfection (PAD) of dental root canal system – An ex vivo study. *Saudi Journal of Biological Sciences*: 23, 122–127. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4705244/pdf/main.pdf>
- Olivi, G., De Moor, R., DiVito, E. (2016). *Lasers in Endodontics Scientific Background and Clinical Applications*. Editorial Springer. Switzerland.
- Samiei M, Shahi S, Abdollahi AA, Eskandarinezhad M, Negahdari R, Pakseresht Z. The Antibacterial Efficacy of Photo-Activated Disinfection, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Infected Root Canals: An *in Vitro* Study. *Iran Endod J*. 2016; 11(3):179-83. Doi: 10.7508/iej.2016.03.006.
- Schoop, U., Moritz, A., Kluger, W., Patruta, S., Goharkhay, K., Sperr, W., Wenisch, J., Gattringer, R., Mrass, P., Georgopoulos, A. (2002). The Er: YAG Laser in Endodontics: Results of an In Vitro Study. *Lasers in Surgery and Medicine* 30: 360-364. <https://www.laser-eryag.com/wp-content/uploads/2016/10/The-ErYAG-Laser-in-Endodontics-Results-of-an.pdf>
- Torabinejad, M., Walton, R. & Fouad, A. (2015). *Endodontics Principles and Practice*. 5ta edición. Editorial Mosby Elsevier. Missouri, USA.

Vaid, D., Shah, N. And Bilgi, P. (2017). Additive efecto of photoactivated disinfection on the antibacterial activity of QMis 2 in1 against 6-week *Enterococcus faecalis* biofilms: An *in vitro* study. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*. 20(1): 41-45.

World Health Organization. Oral Health. Published 2018. Accessed 21 junio 2019.

Xhevdet A, Stubljar D, Kriznar I, Jukic T, Skvarc M, Veranic P, Ihan A. The Disinfecting Efficacy of Root Canals with Laser Photodynamic Therapy. *Journal of Lasers in Medical Sciences* 2014;5(1):19-26
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4290519/pdf/jlms-5-19.pdf>