



EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN GEL DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y UN GEL DE NANOBARRAS DE ORO ACTIVADO POR TERAPIA FOTOTÉRMICA SOBRE UN BIOFILM DE E. FAECALIS. ESTUDIO EX VIVO por Vivian María Galdámez Falla se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA



DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN GEL DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y UN GEL DE NANOBARRAS DE ORO ACTIVADO POR TERAPIA FOTOTÉRMICA SOBRE UN BIOFILM DE *Enterococcus faecalis*. ESTUDIO EX VIVO**

TESIS QUE PRESENTA:

**CD.ME. Vivian María Galdámez Falla**

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

DIRECTOR DE TESIS

PhD. Gabriel Alejandro Martínez Castañón

CO-DIRECTORA

PhD. Nereyda Niño Martínez

San Luis Potosí, S.L.P. 23 de septiembre de 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA



DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN GEL DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y UN GEL DE NANOBARRAS DE ORO ACTIVADO POR TERAPIA FOTOTÉRMICA SOBRE UN BIOFILM DE *Enterococcus faecalis*. ESTUDIO EX VIVO**

TESIS QUE PRESENTA:

**Vivian María Galdámez Falla**

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

DIRECTOR DE TESIS

PhD. Gabriel Alejandro Martínez Castañón

CO-DIRECTORA

PhD. Nereyda Niño Martínez

San Luis Potosí, S.L.P. 23 de septiembre de 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA



DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN GEL DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y UN GEL DE NANOBARRAS DE ORO ACTIVADO POR TERAPIA FOTOTÉRMICA SOBRE UN BIOFILM DE *Enterococcus faecalis*. ESTUDIO EX VIVO**

TESIS QUE PRESENTA:  
**Vivian María Galdámez Falla**

PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**DOCTOR EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

DIRECTOR DE TESIS  
PhD. Gabriel Alejandro Martínez Castañón

CO- DIRECTORA  
PhD. Nereyda Niño Martínez

ASESORES

PhD. Idania de Alba Montero  
PhD. Nuria Patiño Marín  
PhD. Facundo Ruiz

San Luis Potosí, S.L.P. 23 de septiembre de 2022

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**  
**FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN GEL DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y UN GEL DE NANOBARRAS DE ORO ACTIVADO POR TERAPIA FOTOTÉRMICA SOBRE UN BIOFILM DE *Enterococcus faecalis*. ESTUDIO EX VIVO**

Doctorado en Ciencias Odontológicas

**SINODALES:**

Presidente: PhD. Nuria Patiño Marín \_\_\_\_\_

Secretario: PhD. Facundo Ruiz \_\_\_\_\_

Vocal 1: PhD. Nereyda Niño Martínez. \_\_\_\_\_

Vocal 2: PhD. Idania de Alba Montero \_\_\_\_\_

Vocal 3: PhD. Gabriel Alejandro Martínez Castañon \_\_\_\_\_

**SINODAL EXTERNO:**

Dr. Luis Octavio Hernández Arteaga \_\_\_\_\_

**AUTORIDADES:**

Nuria Patiño Marín  
Coordinadora del Doctorado \_\_\_\_\_

**FINANCIAMIENTO**

DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

CONACYT Beca N° 756424

CONACYT CVU 745779

**DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA**

San Luis potosí. S.L.P. 26 de agosto del 2022

Los abajo firmantes miembros del comité tutorial después de una revisión cuidadosa del trabajo: autorizamos al M.C. Vivian María Galdamez Falla, la impresión final del trabajo de tesis titulado “**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN GEL DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y UN GEL DE NANOBARRAS DE ORO ACTIVADO POR TERAPIA FOTOTÉRMICA SOBRE UN BIOFILM DE *Enterococcus faecalis*. ESTUDIO EX VIVO**”, para obtener el grado de Doctor en Ciencias Odontológicas otorgado por el Doctorado en Ciencias Odontológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

---

PhD. Gabriel Alejandro Martínez Castañón (Director de tesis)

---

PhD. Nereyda Niño Martínez ( Co- Director de tesis)

---

PhD. Idania de Alba Montero (Asesor)

---

PhD. Nuria Patiño Marín (Asesor)

---

PhD. Facundo Ruiz (Asesor)

## RESUMEN

### **Efectividad Antimicrobiana de un Gel de Nanopartículas de Plata y un Gel de Nanobarras de Oro activado por Terapia Fototérmica sobre un biofilm de *Enterococcus faecalis*. Estudio Ex Vivo.**

Vivian-María Galdámez-Falla MSc<sup>1</sup>, Idania de Alba Montero PhD<sup>2</sup>, Nuria Patiño-Marín PhD<sup>1</sup>, Nereyda Niño-Martínez PhD<sup>2</sup>, Facundo Ruiz PhD<sup>2</sup>, Gabriel-Alejandro Martínez-Castañón<sup>1</sup>.

1. Doctorado en Ciencias Odontológicas, Facultad de Estomatología, UASLP, San Luis Potosí, México.
2. Facultad de Ciencias, UASLP, San Luis Potosí, México.

La endodoncia es una especialidad en el campo de la Odontología que consiste en la eliminación bacteriana dentro del conducto radicular. El objetivo es la desinfección, instrumentación y obturación tridimensional del conducto radicular. El éxito del tratamiento de la endodoncia es alcanzado por una acción mecánica y una química. Los microorganismos en el interior del conducto radicular están en forma de biofilm por lo cual es su eliminación se dificulta, así también por la anatomía del sistema del conducto radicular. El irrigante más utilizado hoy en día es el hipoclorito de sodio (1%, 2.5%, 5.25%), sin embargo, por su toxicidad hacia los tejidos blandos del paciente, se busca un coadyuvante o un reemplazo a este para un uso más seguro a la hora de realizar el tratamiento de endodoncia. En este estudio se creó y utilizó un gel con nanopartículas de oro (Ch-AuNR's) y un gel de nanopartículas plata (Ch-AgNP's) activado con terapia fototérmica (PPTT, láser diodo 830nm), se evaluó su efecto antimicrobiano en un biofilm de 24 horas, realizado en raíces extraídas de dientes humanos. Se instrumentaron y esterilizaron las muestras para luego formar un biofilm de *E. faecalis* de 24 horas con método estático. Las raíces fueron previamente divididas a la mitad longitudinalmente, para que al formar el biofilm éste se desarrolle únicamente en el conducto para no tener contaminación de la superficie externa de la raíz y tener acceso directo del láser directamente en los geles. Al obtener el biofilm de

24 horas, se dividieron aleatoriamente las muestras en 4 grupos, n=15. El grupo A: Ch:AuNRs con PPTT, grupo B: Ch:AgNPs con PPTT, grupo C: control de crecimiento (Agua estéril) y grupo D: Control de inhibición (NaOCl 5.25%). Se colocó, en el conducto radicular 1ml de gel, agua estéril o hipoclorito al 5.25%. En los grupos donde se utilizó gel se aplicó directamente un láser diodo de 830nm durante 1 min. Se enjuagó cada raíz con agua estéril para retirar el material aplicado, se llevó a cabo una toma de muestra con una punta de papel y se transfirió a un tubo con medio Mueller Hinton, se colocaron en la incubadora a 36° C por 24 horas. Pasadas las 24 horas se realizaron diluciones, se trabajó con técnica de diseminación de superficie en placas de agar y a las 24 horas de incubación se hizo el conteo de Unidades formadoras de colonias (UFC). El grupo de Ch:AuNRs con PPTT no tuvo diferencia significativa con el grupo control de inhibición (NaOCl 5.25%) en el conteo post tratamiento. El grupo Ch:AgNPs, tuvo diferencia significativa con el grupo control de inhibición, teniendo una baja eliminación bacteriana y no tuvo diferencia significativa con el grupo control de crecimiento. El uso del gel de nanobarras de oro con terapia fototérmica puede ser útil como coadyuvante para el tratamiento de endodoncia, sin embargo, requiere más investigación. En el grupo de nanopartículas de plata se encontró eliminación bacteriana en un bajo porcentaje, por lo que requiere más investigación con un tiempo mayor de exposición.

## ABSTRACT

### **Antimicrobial Effectiveness of a Gold Nanorod and a Silver Nanoparticle Gel activated by PPTT on a 24 hours *E. faecalis* biofilm. Ex vivo Study**

Vivian-María Galdámez-Falla MSc<sup>1</sup>, Idania de Alba Montero PhD<sup>2</sup>, Nuria Patiño-Marín PhD<sup>1</sup>, Nereyda Niño-Martínez PhD<sup>2</sup>, Facundo Ruiz PhD<sup>2</sup>, Gabriel-Alejandro Martínez-Castañón PhD.<sup>1</sup>

1. Doctorado en Ciencias Odontológicas, Facultad de Estomatología, UASLP, San Luis Potosí, México.

2. Facultad de Ciencias, UASLP, San Luis Potosí, México.

Endodontics is a specialty in the field of dentistry that consists in the elimination of bacteria in the root canal. The objective is the disinfection, instrumentation and three-dimensional obturation of the root canal. The success of endodontic treatment is achieved by a mechanical and a chemical action. The microorganisms inside the root canal are in the form of a biofilm, which makes their elimination more difficult, as well as the anatomy of the root canal. The most widely used irrigant today is sodium hypochlorite (1%, 2.5%, 5.25%), however, due to its toxicity towards the patient's soft tissues, today an adjuvant or replacement is sought for a safer use when performing endodontic treatment. The aim of this study was to evaluate antimicrobial effectiveness of a gold nanorods and a silver nanoparticles hydrogel activated by photothermal therapy (PPTT) using a 24h biofilm of *E. faecalis* in extracted roots.

Roots were sectioned longitudinally in half, instrumented and sterilized. *E. faecalis* biofilm was formed in the canal of each half with static method. The gold nanorods and silver nanoparticles hydrogels (Ch-AuNRs / Ch-AgNPs) were made following the methodology by Bermúdez-Jiménez and cols., performing modifications. Roots were randomly selected and were distributed in groups, n=15. Group A: Ch: AuNRs with PPTT, group B: Ch: AgNPs with PPTT, Group C: growth or positive control (sterile water) and group D: inhibition control group

(NaOCl 5.25%). Hydrogels were placed in each root canal and diode laser (830nm/200mW) was directed at the root canal (30s intervals, 1m). Roots were rinsed with sterile water and a paper point was placed in the canal and then transferred to a tube with medium and physiological solution (phosphates and nutrition medium), incubated at 37 °C, 24h. Microbial count technique by serial dilution was done, consisting in diluting the sample in dilution factors to ten, seed 100µl of the dilutions in an agar plaque, spread the inoculum in a homogeneous form in the plaque with sterile glass dipstick, using L seeding technique. Plaques were incubated at 37 °C, 24h.

Counting colony-forming-units (CFU) was the method used to evaluate the elimination of microorganisms in each group. The group of Ch:AuNRs with PPTT had no significant difference with the inhibition control group (NaOCl 5.25%) in the post treatment count. The Ch:AgNPs group had a significant difference with the inhibition control group, having a low bacterial elimination and had no significant difference with the growth control group. The use of gold nanorod gel with photothermal therapy can be useful as an adjuvant for endodontic treatment, however, it requires more research. Bacterial elimination was found in the group of silver nanoparticles, but in a low percentage, it requires more research with a longer exposure time.

## PRODUCCIÓN ACADÉMICA

### 1. Cursos y Talleres

Otorga	Nombre del curso	Fechas	Estado/País de la actividad
TOEFL	TOEFL ITP	Octubre 2019	San Luis Potosí, México
CMI, Capacitación Medica Integral	“Soporte Básico de Vida para el Personal de Salud”	Agosto 2019	San Luis Potosí, México
UASLP	“Metodología de la Investigación y Curso de Biética”	Enero 2020	San Luis Potosí, México
IMSS	Todo Sobre La Prevención Del Covid-19	Agosto 2020	Ciudad México, México
CMI, Capacitación Medica Integral	“Actualización Curso: Soporte Básico de Vida para el Personal de Salud”	Febrero 2022	San Luis Potosí, México
Centro Universitario de los Altos, Universidad de Guadalajara	“ Instrumentación y CBCT”	Febrero 2022	Aguascalientes, México
Colegio de Cirujanos Dentistas de San Juan del Río A.C.	“Manejo del Dolor Actual en Endodoncia, CBCT y Resonancia”	Julio 2022	Querétaro, México

### 2. Congresos Nacionales e Internacionales con o sin memorias

Otorga	Título de la ponencia	Autores	Nombre del congreso	Fechas	Lugar. Estado-País
International Association for Dental Research	Antimicrobial Effectiveness of al Gold Nanorod and a Silver Nanoparticle Gel activated by PPTT	Vivian-María Galdámez-Falla MSc, Idania de Alba-Montero PhD, Nuria Patiño-Marín PhD, Nereyda Niño-Martínez PhD Facundo Ruiz PhD Gabriel-Alejandro Martínez-Castañón	IADR General Session 2022	25 JUNIO 2022	Virginia, Estados Unidos

### 3. Asistencia a Congresos sin ponencia

Otorga	Nombre del congreso	Fechas	Lugar. Estado-País
Universidad Francisco De Vitoria	Congreso Virtual Odontología Multidisciplinar #Yomeformoencasa	Abril 2020	Madrid, España.
AS-ENUG	Seminario Internacional De Endodoncia 2020	Octubre 2020	Guadalajara, México
Academia Mexicana de Endodoncia	Congreso Virtual AMEAC 2020	Octubre 2020	Ciudad México, México
UASLP	XXVIII Congreso Internacional de Posgrados	Agosto 2021	San Luis Potosí, México

### 4. Pertenencia a una Asociación

Nombre de la asociación	Lugar o papel que representa	Fechas	Lugar. Estado-País
International Association for dental Research	Miembro activo	2021-2022	Estados Unidos
American Association of Endodontics/ Journal of Endodontics	Miembro	2021 -2022	Estados Unidos

## 5. Publicaciones

Modalidad de Artículo Científico o Difusión	Año de publicación	Título	Autores	Referencia completa.	Revista (Factor de Impacto)
Difusión	Pendiente de revisión	LA ENDODONCIA Y APLICACIÓN DE LA NANOTECNOLOGÍA ANTIMICROBIANA	Vivian-Maria Galdámez-Falla MSc, Idania de Alba-Montero PhD, Nuria Patiño-Marín PhD, Nereyda Niño-Martínez PhD Facundo Ruiz PhD  Gabriel-Alejandro Martínez-Castañón	Pendiente de publicación	Revista Contactos. Revista de Educación en Ciencias y Ingeniería
Investigación Clínica	Publicado	Formation of a Mature Biofilm of Enterococcus Faecalis in Root Canal and its Treatment using Gold Nanorods	Vivian-Maria Galdámez-Falla MSc, Idania de Alba-Montero PhD, Nuria Patiño-Marín PhD, Nereyda Niño-Martínez PhD Facundo Ruiz PhD  Gabriel-Alejandro Martínez-Castañón	9(1): 31-43, 2022; Article no.JMSRR.85091	Journal of Materials Science Research and Reviews

**TESIS:**

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN GEL DE  
NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y UN GEL DE  
NANOBARRAS DE ORO ACTIVADO POR  
TERAPIA FOTOTÉRMICA SOBRE UN BIOFILM DE  
*Enterococcus faecalis*. ESTUDIO EX VIVO**

## ÍNDICE

1. Introducción.....	1-2
2. Antecedentes.....	3-22
3. Planteamiento del Problema.....	23
4. Justificación.....	24
5. Pregunta de Investigación.....	24
6. Objetivos .....	24-25
7. Diseño del estudio.....	25
8. Hipótesis .....	25
9. Metodología .....	26
10. Criterios de selección de las muestras .....	26-27
11. Variables.....	27-29
12. Análisis Estadístico.....	29
13. Consideraciones Éticas .....	29
14. Fase Experimental.....	30-36
15. Resultados.....	37-43
16. Discusión.....	44-49
17. Conclusiones.....	50
18. Perspectivas .....	50
19. Referencias Bibliográficas .....	51-54

## 1. INTRODUCCIÓN

El tratamiento de endodoncia se basa en la desinfección, preparación mecánica y obturación tridimensional del sistema de conductos radiculares. Tiene como objetivo la eliminación bacteriana mediante medidas de control cuidadosas para restablecer la salud oral del paciente. <sup>1</sup> La meta en la terapia endodóntica es prevenir el fracaso endodóntico previniendo así la periodontitis periapical. La anatomía del órgano dental, número y complejidad de los conductos, técnica de irrigación y de instrumentación, factores microbianos, sistema inmune del huésped, son factores que influyen en el éxito del tratamiento endodóntico.

La complejidad del sistema del conducto radicular, sus istmos, ramificaciones y túbulos dentinarios hace que el desbridamiento completo de bacterias sea casi imposible, incluso cuando los métodos convencionales de instrumentación de endodoncia e irrigación se realizan con los más altos estándares técnicos. Los estudios han demostrado que las bacterias pueden penetrar en los túbulos dentinarios hasta una profundidad de 300 mm a 1,500mm. Desafortunadamente, las bacterias dentro de los túbulos dentinarios son inaccesibles para los irrigantes convencionales del conducto radicular, los medicamentos y los selladores porque tienen una penetrabilidad limitada en los túbulos dentinarios.<sup>2,3</sup>

Debido a la limitada acción de desinfección promovida por los irrigantes de uso común, se han investigado soluciones alternativas las cuales pueden ser utilizadas como coadyuvantes o sustituto al irrigante mayormente utilizado hoy en día o hasta nombrado en algunas ocasiones el irrigante estándar de oro de la Endodoncia el cual es el Hipoclorito de Sodio a diferentes concentraciones. Se han observado resultados positivos de antimicrobianos y antibióticos con la adición de nanopartículas en diferentes materiales dentales. Las nanopartículas (NP) son partículas microscópicas con una o más dimensiones en el rango <100 nm y se ha

observado que el tamaño de las nanopartículas juega un papel importante en su actividad antibacteriana.<sup>3</sup>

Esto ha alentado nuevas tecnologías como el uso de nanopartículas para la desinfección los conductos radiculares durante la terapia endodóntica, utilizándose en medicamentos intraconducto o irrigantes.<sup>2</sup> Otros métodos son el uso de láser (Terapia Foto Térmica) junto con las nanopartículas, el uso del láser y el hipoclorito de sodio, o el uso del láser individual en el conducto radicular, terapia PIPS, etc. Recientemente también se han realizado varios estudios de terapia fotodinámica para el tratamiento de Endodoncia, pero hoy en día ya se ha llegado a la conclusión que no es efectiva para el conducto radicular ya que esta terapia trabaja con oxígeno el cual no está disponible en los últimos tercios del conducto radicular.<sup>2,3</sup>

En este trabajo se evaluó el efecto antibacteriano de hidrogeles de quitosano con nanopartículas de plata (ChAgNPs) y nanobarras de oro (ChAuNRs) activadas por terapia fototérmica, sobre un biofilm de 24 horas, formados en órganos dentales extraídos.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. IRRIGACIÓN EN ENDODONCIA

La terapia endodóntica consiste en la remoción pulpar y la eliminación bacteriana, mediante los procedimientos de limpieza, conformación y obturación del sistema del conducto radicular. Los estudios han demostrado concluyentemente que la instrumentación mecánica no puede proporcionar suficiente desinfección de los conductos radiculares, independientemente de que instrumentos se utilicen ya que su acción es limitada frente a los microorganismos que se encuentran en los túbulos dentinarios, ramificaciones u otras áreas inaccesibles, siendo de vital importancia el protocolo de irrigación.<sup>4</sup>

La Asociación Americana de Endodoncia define la irrigación como el lavado mediante una corriente de fluido. Un irrigante ideal elimina las bacterias, disuelve el tejido orgánico, lubrica el conducto, elimina la capa de barrillo dentinario y no irrita los tejidos sanos. Su principal objetivo es la reducción de los microorganismos incluyendo aquellos difíciles de erradicar de los conductos radiculares, entre los cuales tenemos al *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces* y *Cándida albicans*.<sup>4</sup> Las soluciones de irrigación utilizadas son: el hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones, los agentes quelantes solos o combinados, la clorhexidina, ácidos, peróxidos, detergentes, soluciones electroquímicamente activas, fotoactivación, agua ozonada, entre otros. El irrigante más utilizado hoy en día, aunque no cumple con todas las especificaciones de un irrigante ideal es el hipoclorito de sodio.<sup>5,6</sup>

Las técnicas de irrigación permiten la acción de como se lleva el irrigante al interior del conducto y su forma de trabajo. Algunas de estas son: Irrigación con jeringa, irrigación activada por ultrasonido, irrigación activada manualmente, activada por sonicación, irrigación con presión negativa y positiva.<sup>6</sup>

### 2.1.1 HIPOCLORITO DE SODIO

Es un compuesto químico resultante de la mezcla de cloro, hidróxido de sodio y agua, fue desarrollado por el francés Berthollet en 1787 para blanquear telas. Luego a fines del siglo XIX Luis Pasteur comprobó su poder de desinfección, extendiendo su uso en defensa de la salud contra gérmenes y bacterias. Su amplia utilización en endodoncia se debe a su capacidad para disolver tejidos y a su acción antibacteriana. <sup>4</sup>

En odontología se comenzó a utilizar hacia el año 1792, cuando fue producido por primera vez y recibió el nombre de Agua de Javele. Se puede clasificar en NaOCl al 5% (soda clorada), NaOCl al 2,5% (solución de Labarraque), NaOCl al 1% con 16% de cloruro de sodio (solución de Milton), NaOCl al 0,5% con ácido bórico para reducir el pH (solución de Dakin), NaOCl al 0,5% con bicarbonato de sodio (solución de Dausfrene). <sup>4,6</sup>

El NaOCl tiene muchas de las propiedades deseables de un irrigante de conducto radicular y, por tanto, se ha descrito como el irrigante ideal. En el campo endodóntico, tiene una actividad antimicrobiana de amplio espectro frente a microorganismos y biopelículas endodónticas, incluyendo aquellos difíciles de erradicar de los conductos radiculares, como las especies *Enterococcus*, *Actinomyces* y *Candida*. <sup>4</sup>

El NaOCl disuelve material orgánico como tejido pulpar y colágeno, es incapaz de disolver la sustancia inorgánica, es por ello por lo que se recomienda su utilización en combinación con alguna sustancia quelante. Parece ser similar al hidróxido de calcio, debido al alto pH del NaOCl, que interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática de las bacterias, el metabolismo celular y la degradación de los fosfolípidos presentes en el conducto radicular. La disolución del tejido orgánico puede verse en la reacción de saponificación que ocurre debido a la acción de NaOCl sobre los lípidos y los ácidos grasos. <sup>5</sup>

Durante la terapia endodóntica, las soluciones de NaOCl se usan a concentraciones variables entre el 0,5 y el 6%. Las concentraciones menores (p. ej., 0,5 o 1%) disuelven principalmente el tejido necrótico. Las concentraciones mayores proporcionan mejor disolución tisular, pero disuelven los tejidos tanto necróticos como vivos, un efecto no siempre deseable. Habitualmente, los irrigantes han sido introducidos en los conductos radiculares de forma pasiva mediante una jeringa y una aguja. Cuando se administran de forma pasiva, los irrigantes sólo progresan 1mm más allá de la punta de la aguja. Es probable que los conductos apicales ensanchados permitan la inserción cada vez más profunda de la aguja, mejorando el desbridamiento y la desinfección de los conductos. El NaOCl es un agente muy cáustico e inespecífico cuya acción no se limita al tejido necrótico. Es citotóxico para todas las células excepto los epitelios fuertemente queratinizados. Los cambios patológicos de un accidente con hipoclorito descrito por E.L. Pashley y cols. (1985) ocurrieron dentro de los 30 minutos a partir de la eyección del NaOCl y duraron de 24 a 48 horas.<sup>4</sup> Una de las consecuencias clínicas más graves del uso de NaOCl es el paso de parte de la solución a través del foramen apical el cual a veces ocurre cuando la aguja se encaja momentáneamente en el conducto durante la irrigación o cuando se irriga con mucha presión. Las consecuencias de esto son dolor inmediato, edema, desprendimiento ocasional de mucosa y hueso suprayacentes, necrosis de tejidos adyacentes.<sup>5,6,7</sup>

## **2.2 MICROORGANISMOS EN ENDODONCIA: *E. Faecalis*, *Cándida Albicans*, *Actinomyces spp.***

Actualmente se conoce una amplia variedad de microorganismos capaces de colonizar el sistema de conductos radiculares. Se puede afirmar que el sistema de conductos radiculares puede ser altamente infectado y consecuentemente, alojar microorganismos en todas las áreas de este. En general, las especies más frecuentes en infecciones primarias de conductos radiculares infectados pertenecen usualmente a los géneros *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas*

*spp.*, *Treponema spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Eubacterium spp.*, *Actinomyces spp.* y *Streptococcus*.<sup>8</sup>

El fracaso endodóntico principalmente es atribuido a la persistencia de infección intrarradicular, cuando los procedimientos del tratamiento no cumplen con los estándares para el control y eliminación de los microorganismos y hay una recontaminación del sistema de conductos radiculares. Los microorganismos persistentes en los conductos radiculares pueden haber estado presentes originalmente en la pulpa necrótica y sobrevivir a los procedimientos de limpieza químico-mecánica. Estos pudieran estar localizados en conductos no tratados, ramificaciones y áreas no instrumentadas del sistema de conductos radiculares.

En la mayoría de los casos, el fracaso del tratamiento endodóntico es el resultado de la persistencia de microorganismos en la porción apical del sistema de conductos radiculares. Los principales microorganismos que se han encontrado en los fracasos endodónticos son *Actinomyces spp.*, *Cándida albicans* y el más resistente *Enterococcus faecalis*.<sup>8,9</sup>

- *Actinomyces spp.*

Son bacilos Gram positivos, anaerobios estrictos o facultativos, no esporulados. Pertenecen a la Familia Actinomycetaceae Género Actinomyces, las especies comúnmente asociadas a la Actinomicosis Periapical son: *A. israelii*, *A. gerenteseriae*, *A. meyeri*, *A. naeslundii* y *A. odontolyticus*, *A. viscosus*, *A. radidentis*). Estas bacterias poseen fimbrias las cuales favorecen la adhesión, agregación y coagregación, dificultando así la fagocitosis.

Sjögren y Sundqvist (1987) reportan especies de *Actinomyces spp.* presentes en tres casos con tratamiento endodóntico fallido, mientras que no estaban implicadas otras bacterias específicas. Reportaron que las especies de *Actinomyces spp.* fueron aisladas de aproximadamente el 15% de los casos. Aunque los aislamientos de *Actinomyces spp.* se recuperan de los dientes con pulpas necróticas, se asocian

principalmente con casos de tratamiento fallido del conducto radicular con lesiones periapicales asintomáticas. C.E. Radcliffe y cols. (2004) demostraron en sus estudios que todas las concentraciones probadas de NaOCl, incluyendo 0.5% p / v, demostraron ser efectivas contra estas cepas de *Actinomyces spp.* en tan solo 10 segundos.<sup>8,9</sup>

- *Cándida albicans*

*Cándida albicans* es una levadura que se ha reportado en casos de tratamiento endodóntico fallido. Se desconoce en qué medida las especies de *Cándida* pueden ser importantes en la persistencia de la infección periapical. Sin embargo, puede ser significativo que tales especies estén presentes y que no respondan a los procedimientos convencionales de limpieza y conformación de la misma manera que otros organismos. Radcliffe y cols. reportan que cada concentración de hipoclorito de sodio demostró ser efectiva contra cada cepa en todo momento de contacto con *Cándida albicans*. Más de 9 millones de UFC se redujeron por debajo del límite de detección en tan solo un 0,5% de hipoclorito de sodio en un tiempo de contacto de 10 segundos.<sup>8,9</sup>

- *Enterococcus faecalis*

Los enterococos son cocos Gram positivos que pueden presentarse solos, en pares o como cadenas cortas. Son anaerobios facultativos, que poseen la capacidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno. Los enterococos sobreviven en ambientes muy hostiles que incluyen pH alcalino extremo (9.6) y concentraciones de sal. Resisten sales biliares, detergentes, metales pesados, etanol, azida y desecación. Pueden crecer en el rango de 10 a 45 ° C y sobrevivir a una temperatura de 60 ° C durante 30 min.<sup>10</sup>

*Enterococcus faecalis* es la bacteria más común y, ocasionalmente, la única bacteria aislada de los conductos radiculares de los dientes con periodontitis periapical persistente o tratamientos fallidos. *E. faecalis* es capaz de suprimir la acción de los linfocitos, contribuyendo potencialmente a la falla endodóntica. *E. faecalis* no se

limita a su posesión de varios factores de virulencia. También es capaz de compartir estos rasgos de virulencia entre las especies, contribuyendo aún más a su supervivencia y capacidad de causar enfermedades. <sup>13</sup>

En general, los anaerobios facultativos son menos susceptibles a las medidas antimicrobianas que los anaerobios y, por lo tanto, tienen más probabilidades de sobrevivir al tratamiento del conducto radicular a menos que los procedimientos de limpieza y modelado sean del más alto nivel. La resistencia al tratamiento de los enterococos en el conducto radicular ha sido reconocida por mucho tiempo por Möller en 1966. Haapasalo y cols. (2012) han demostrado que el hidróxido de calcio es ineficaz para matar *E. faecalis* en los conductos radiculares. <sup>13,14,15</sup>

*E. faecalis* es una especie resistente y puede soportar ciertos agentes químicos, incluidos algunos antibióticos, que serían altamente tóxicos para otros organismos. Su persistencia en la infección endodóntica podría verse favorecida por una mayor resistencia al hipoclorito de sodio. <sup>13</sup>

### **2.2.1. Biofilm y Resistencia Bacteriana**

Las biopelículas o biofilm traducido al inglés, se ha definido como estructuras altamente organizadas que consisten en células bacterianas encerradas en una matriz exopolimérica autoproducida unida en una superficie. Esta matriz dificulta la penetración de agentes en la biopelícula, limitando su efectividad a la capa superficial. La formación de estas comunidades sésiles y su resistencia inherente a los agentes antimicrobianos, son la raíz de muchas infecciones bacterianas persistentes y crónicas. Las bacterias en forma de biofilm son hasta 1000 veces más resistentes que las bacterias correspondientes en forma planctónica. <sup>13</sup>

Las biopelículas constituyen un modo de crecimiento protegido que permite la supervivencia en un ambiente hostil. Las estructuras que se forman en las biopelículas contienen canales en los que los nutrientes pueden circular, y las células en diferentes regiones de una biopelícula exhiben diferentes patrones de expresión génica. La complejidad de la estructura y el metabolismo de las

biopelículas ha llevado a la analogía de las biopelículas con los tejidos de los organismos superiores.<sup>13,14</sup>

La terapia con antibióticos generalmente revierte los síntomas causados por las células planctónicas liberadas del biofilm, pero no logra eliminarla. Por esta razón, las infecciones por biofilm generalmente muestran síntomas recurrentes, después de ciclos de terapia con antibióticos, hasta que la población sésil se extirpa quirúrgicamente del cuerpo, como en una cirugía periapical al remover la biopelícula extrarradicular. Las células bacterianas planctónicas se liberan de las biopelículas, y existe un patrón natural de desprendimiento programado, por lo tanto, las biopelículas pueden actuar como "nidos" de infección aguda si las defensas movilizadas del huésped no pueden eliminar las células planctónicas que se liberan en cualquier momento durante la infección; las células bacterianas sésiles pueden resistir las respuestas inmunitarias del huésped, y son mucho menos susceptibles a los antibióticos que sus contrapartes planctónicas individuales no adheridas.<sup>13</sup>

Es probable que las biopelículas evadan los desafíos antimicrobianos por múltiples mecanismos. Un mecanismo de resistencia de la biopelícula a los agentes antimicrobianos es la incapacidad de un agente de penetrar en toda la profundidad de la biopelícula. Se sabe que las sustancias poliméricas como las que forman la matriz de una biopelícula retardan la difusión de antibióticos o irrigantes, y los solutos en general se difunden a velocidades más lentas dentro de las biopelículas que en el agua. El agente antimicrobiano se desactiva en las capas externas de la biopelícula más rápido de lo que se difunde. Esto es cierto para los oxidantes reactivos como el hipoclorito y el peróxido de hidrógeno. Estos oxidantes antimicrobianos son productos del estallido oxidativo de las células fagocíticas, y la penetración deficiente de las especies reactivas de oxígeno puede explicar en parte la incapacidad de las células fagocíticas para destruir los microorganismos de las biopelículas.<sup>14,15</sup>

Una segunda hipótesis para explicar la reducción de la susceptibilidad de las biopelículas a los antibióticos postula que al menos algunas de las células en una biopelícula experimentan limitación de nutrientes y, por lo tanto, existen en un

estado de crecimiento lento o de hambre. Un tercer mecanismo de susceptibilidad reducida de biopelículas, que es más especulativo que las hipótesis anteriores, es que al menos algunas de las células de una biopelícula adoptan un fenotipo de biopelícula distinto y protegido. Este fenotipo no es una respuesta a la limitación de nutrientes; es una respuesta biológicamente programada al crecimiento en una superficie.<sup>14,15</sup>

Los biofilms se han estudiado cada vez más y las estimaciones indican que las infecciones por biopelículas comprenden del 65% al 80% de las infecciones humanas en el mundo. Las investigaciones in situ utilizando microscopía óptica y / o electrónica han permitido observaciones de bacterias que colonizan el sistema del conducto radicular en infecciones primarias o persistentes / secundarias como biopelículas sésiles que cubren las paredes de la dentina. Se ha demostrado que las ramificaciones apicales, los canales laterales y los istmos que conectan los conductos radiculares principales albergan células bacterianas, que también se organizan con frecuencia en estructuras similares a biopelículas. Además, las biopelículas adheridas a la superficie de la raíz apical (biopelículas extra radiculares) han sido reportadas y consideradas como una posible causa de periodontitis apical posterior al tratamiento.<sup>13</sup>

El *Enterococcus faecalis* es un organismo predominante que desempeña un papel importante en la etiología de las lesiones peri radiculares persistentes después del tratamiento del conducto radicular. La resistencia antimicrobiana inherente y la capacidad de adaptarse al entorno cambiante ayudan a *E. faecalis* a persistir en el conducto radicular. *E. faecalis* puede adherirse a las paredes del conducto radicular, acumularse y formar comunidades organizadas en biopelículas, lo que le ayuda a resistir la destrucción al permitir que las bacterias se vuelvan 1,000 veces más resistentes a la fagocitosis, anticuerpos y antimicrobianos que los organismos que no producen biopelículas.<sup>13</sup>

La mayoría de los estudios sobre la formación de biopelículas de *E. faecalis* en el conducto radicular se han realizado en condiciones ambientales que permiten que

las células crezcan y se dividan normalmente. Sin embargo, se ha demostrado que un cambio importante en el ambiente inducido por el tratamiento del conducto radicular o la desorganización del biofilm por medio de las limas en el tratamiento, está relacionado con una reducción dramática en la disponibilidad de nutrientes y oxígeno.<sup>14</sup>

Liu y cols. (2010) demostraron que *E. faecalis* en la fase de inanición podría sobrevivir a través de un entorno adverso y formar biopelículas en la dentina humana con una eficiencia reducida en comparación con las células en la fase exponencial y las células estacionarias. Las biopelículas desarrolladas por células de *E. faecalis* hambrientas fueron más resistentes al NaClO al 5,25% que las de las células estacionarias y similares a las de las células en la fase exponencial. La capacidad de *E. faecalis* para sobrevivir en un ambiente hostil y formar biopelículas que responden al 5.25% de NaClO puede contribuir al papel predominante de *E. faecalis* involucrado en infecciones periapicales persistentes.<sup>17</sup>

### **2.3 Nanopartículas en Endodoncia**

Nanomaterial se refiere a un material natural, incidental o manufacturado que contiene partículas en un estado no unido o como un agregado o aglomerado en el que el 50% o más de las partículas en número, tamaño, distribución, uno o más dimensiones externas están en el rango de tamaño de 1–100 nm. Las nanopartículas (NP) han estado en el centro de atención en las últimas décadas debido a sus propiedades innovadoras y funcionales. Las partículas con dimensiones menores a 100 nm hechas de cualquier tipo de sustancia biocompatible pueden definirse como nanopartículas.<sup>16</sup>

Las formulaciones basadas en nanómetros proporcionan una mejor penetración y permiten una liberación lenta y controlada de ingredientes activos en los sitios objetivo. Las áreas superficiales altas de las nanopartículas y, en consecuencia, las concentraciones más altas en el sitio objetivo son los factores más efectivos en el

comportamiento antimicrobiano en comparación con sus contrapartes convencionales.<sup>16,17</sup>

La nanotecnología ha progresado rápidamente en ciencia y tecnología, creando múltiples aplicaciones biomédicas, como la administración de fármacos, la regeneración de tejidos, la aplicación de antimicrobianos, la transfección génica y muchas más. El término nano-odontología implica la aplicación de nanomateriales dentales para el diagnóstico y el tratamiento, con el objetivo de mejorar la salud bucal integral. En el campo de la endodoncia, el desarrollo de nanomateriales se centra en pasos que mejorarían la eficacia antimicrobiana, la integridad mecánica de la matriz de dentina previamente enferma y la regeneración de tejidos. Actualmente, se están probando nuevas tecnologías en endodoncia, principalmente para superar el desafío microbiano.<sup>17,18</sup>

Las nanopartículas tienen ciertas ventajas estructurales y funcionales que explican su importante actividad antimicrobiana, que son potencialmente útiles en el campo de la endodoncia. En endodoncia, tienen las siguientes aplicaciones: irrigantes, medicamentos intraconductos, materiales de obturación, terapia fotodinámica basada en nanopartículas, nanomodificación de materiales para reparación de perforaciones y sellado apical.<sup>16,17</sup>

Se ha demostrado que las nanopartículas poseen actividad antimicrobiana contra patógenos endodónticos comunes. Las nanopartículas de plata (AgNP) poseen acción antimicrobiana contra bacterias y virus. Poseen principalmente actividad antibacteriana contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Los AgNP penetran predominantemente en la pared celular bacteriana y aumentan la permeabilidad de la pared celular, destruyendo así la integridad de la membrana bacteriana.<sup>16,17</sup>

El quitosano es un bioadhesivo y se ha demostrado que posee propiedades antimicrobianas de amplio espectro. Las nanopartículas de quitosano (CsNP) son antimicrobianos de amplio espectro, con acción contra hongos, bacterias Gram-

positivas y Gram-negativas. La atracción entre una CsNP de carga positiva y una membrana celular bacteriana cargada negativamente provoca la fuga de componentes bacterianos intracelulares. Su efecto antifúngico se atribuye al hecho de que evitan que las esporas germinen. <sup>18,19</sup>

Los óxidos metálicos como el óxido de zinc (ZnO), el óxido de magnesio (MgO), el óxido de calcio (CaO) y las nanopartículas de óxido de cobre (CuO) tienen acción antibacteriana y antifúngica. Además de la fuga de componentes intracelulares, también producen iones superóxido y especies reactivas de oxígeno por peroxidación lipídica que causa la muerte celular. El vidrio bioactivo, exhibe actividad antimicrobiana por su capacidad para aumentar el pH del ambiente. <sup>20</sup>

**a) Nanopartículas de quitosano:** el quitosano (poli [1,4-b-D-glucopiranosamina]), un derivado desacetilado de la quitina, es el segundo biopolímero natural más abundante. Las nanopartículas de quitosano pueden sintetizarse o ensamblarse utilizando diferentes métodos dependiendo de la aplicación final o de las características físicas requeridas en las nanopartículas, en diversas formas, como polvo (micro y nanopartículas), cápsulas, películas, andamios, hidrogeles, perlas y vendajes. Las nanopartículas de quitosano se han desarrollado principalmente para aplicaciones antibacterianas y de administración de fármacos / genes. <sup>17,20</sup>

El quitosano tiene excelentes propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas. El mecanismo de acción propuesto es la muerte mediada por contacto que implica la atracción electrostática del quitosano cargado positivamente con membranas celulares bacterianas cargadas negativamente. Esto podría conducir a una alteración de la permeabilidad de la pared celular, lo que eventualmente resultaría en la ruptura de las células y la fuga de los componentes proteicos y otros componentes intracelulares. Se cree que el quitosano ingresa a la célula y llega al núcleo, se une con el ADN e inhibe la síntesis de ARN y proteínas. <sup>17,20</sup>

**b) Vidrio bioactivo:** La actividad antibacteriana de los vidrios bioactivos (BAG) se han investigado utilizando 3 enfoques diferentes. BAG consiste en sílice ( $\text{SiO}_2$ ), óxido de sodio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ), peróxido de calcio ( $\text{CaO}_2$ ) y óxido de fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) en diferentes concentraciones y depende de los cambios fisiológicos locales para sus efectos antibacterianos. La actividad antibacteriana de BAG depende de los siguientes factores que actúan simultáneamente: <sup>17,20</sup>

1. pH alto: Un incremento del pH por la liberación de iones en un medio ambiente acuoso.
2. Efectos osmóticos: una presión muscular aumentada por encima del 1% es inhibitoria para muchas bacterias
3. Ca / Precipitación: induce la mineralización de la superficie bacteriana.

**c) Nanopartículas de plata:** La plata y sus nanopartículas se han probado para su aplicación como material de restauración dental, material de relleno retrógrado endodóntico, implantes dentales y solución inhibitoria de caries. Se sabe que las nanopartículas de plata (Ag-NP) desestabilizan aún más la membrana bacteriana y aumentan la permeabilidad, lo que conduce a la fuga de componentes celulares. <sup>20</sup>

**d) Nanopartículas antimicrobianas funcionalizadas:** En una nanopartícula funcionalizada, los materiales inorgánicos o poliméricos generalmente forman el sustrato central. Las nanopartículas funcionalizadas que contienen diversas moléculas reactivas y decoradas con péptidos u otros ligandos han dado lugar a nuevas posibilidades de combatir la resistencia a los antimicrobianos. <sup>17</sup>

Se ha considerado que los fotosensibilizadores a base de nanopartículas potencian la eficacia de la terapia fotodinámica (PDT). La combinación de nanopartículas con fotosensibilizadores podría lograrse mediante: Fotosensibilizadores complementados con nanopartículas,

Fotosensibilizadores encapsulados dentro de nanopartículas, Fotosensibilizadores unidos o cargados a nanopartículas, y las propias nanopartículas sirven como fotosensibilizadores. Se ha encontrado que las combinaciones de nanopartículas con fotosensibilizador (PDT) mejoran la eficacia antimicrobiana. Las nanopartículas funcionalizadas con fotosensibilizador podrían usarse como una estrategia final de desinfección del conducto radicular, mientras que los vidrios bioactivos y las nanopartículas de plata funcionalizados deben considerarse solo como un medicamento a largo plazo para el conducto radicular. <sup>17,20</sup>

- e) **Nanopartículas de cobre:** Las nanopartículas de CuO en suspensión han demostrado actividad contra un rango de patógenos bacterianos, incluyendo *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y *Escherichia coli*, con concentraciones bactericidas mínimas (MBC) que varían de 100 a 5000 µg / ml. Sin embargo, en comparación con las nanopartículas de plata, estas últimas mostraron una mayor actividad biocida con valores de MBC no superiores a 100 µg / ml. Para endodoncia lo conveniente es que las nanopartículas sean resistentes a *E. faecalis*. <sup>3,20</sup>
  
- f) **Óxido de zinc:** Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO-Np) han reportado un efecto antibacteriano significativo contra *E. faecalis* en forma planctónica al reducir e interrumpir la estructura de la biopelícula. <sup>22,23</sup> Las partículas de ZnO-NP con hidróxido de calcio como medicamento intraconducto pueden favorecer la actividad antimicrobiana a través de la liberación continua de iones hidroxilo y mantener niveles de pH más altos durante períodos de tiempo más largos. <sup>21</sup>
  
- g) **Nanopartículas de oro:** Las NPAu son buenas candidatas para plataformas de administración de fármacos, agentes biomédicos de diagnóstico, tratamiento de hiperemia y radioterapia debido a sus características fisicoquímicas únicas, que incluyen una fácil funcionalización y buena

biocompatibilidad, una gran relación superficie-volumen y relativamente preparación simple.<sup>3,22</sup>

Entre las diversas aplicaciones biomédicas, la mayoría de los esfuerzos se han dedicado a explorar la efectividad potencial de los Au NP como radiosensibilizadores para la radioterapia. Esto se debe a una fuerte absorción fotoeléctrica y liberación secundaria de parte del electrón que provoca irritación por rayos gamma o rayos X. En la radioterapia, funciona como un anticancerígeno como modalidad de tratamiento que se basa principalmente en el bombardeo de radiación ionizante de alta energía al tumor, eliminando así las células cancerosas por escisión directa o fragmentación de ADN y / o generación de radicales libres (H, OH, O<sup>-</sup>) y especies cargadas (H O<sup>+</sup>, H O<sup>+</sup>). Las NP de Au pueden sintetizarse con diferentes morfologías como nanoesferas, nanobarras, nanocubos, nanocajas y nanoestrellas. En aplicaciones biomédicas, los Au NP más utilizados son nanoesferas y nanobarras. En la literatura, se han propuesto varios métodos para sintetizar el tamaño y la forma uniformes de las NP de Au.<sup>21,22,23</sup>

Recientemente, se han usado nanopartículas de oro (Au-NP) junto con láser de diodo para evaluar la actividad antibacteriana y se ha concluido en los estudios que el láser + Au-NP elimina el 80% de las bacterias en comparación con el láser o Au-NP individualmente, los cuales han mostrado una reducción del 70%.<sup>21</sup>

En la terapéutica del cáncer, las nanopartículas de oro (GNP) se han investigado como agentes para la terapia fototérmica (PTT) debido a su fuerte absorción de luz visible e infrarroja cercana (NIR) causada por las oscilaciones colectivas de electrones, la “resonancia de plasma superficial (SPR)”, varios órdenes de magnitud más intensos que los agentes de fototerapia láser convencionales. Esta energía SPR se convierte rápidamente en calor, y siempre que las nanopartículas puedan ser administradas o

dirigidas al tejido afectado, esto puede permitir la terapia con láser a través de hipertermia a niveles bajos de energía óptica que no son dañinos para el tejido sano. <sup>22,23</sup>

Actualmente, las nanobarras de oro (GNR) y las nanocapas de oro son las principales nanoestructuras demostradas en PTT debido a su fuerte absorción en la región NIR donde la penetración de la luz en el tejido es alta (hasta 10 cm de profundidad), así como su facilidad de preparación y capacidad antimicrobiana al destruir a las bacterias por medio de fototermia.

## **2.4 TERAPIA FOTOTÉRMICA/ LÁSER**

La terapia fototérmica (PTT) utiliza radiación de luz para el tratamiento de muchas afecciones médicas, incluido el cáncer. Este enfoque es una extensión de la terapia fotodinámica, en la que un fotosensibilizador se excita con una luz de banda específica. Esta activación lleva al sensibilizador a un estado excitado donde luego libera energía vibracional (calor), que elimina las células objetivo. <sup>24</sup>

PTT se ha desarrollado como una opción para la terapia local y se puede usar para muchas aplicaciones diferentes, desde destruir células cancerosas hasta tratar infecciones bucales. A diferencia de la terapia fotodinámica, la terapia fototérmica no requiere oxígeno para interactuar con las células o tejidos objetivo. Los estudios actuales también muestran que la terapia fototérmica puede usar luz de longitud de onda más larga, que es menos energética y, por lo tanto, menos dañina para otras células y tejidos. <sup>24</sup>

### **-Terapia Fototérmica en Odontología / PTT**

**Efecto antibacteriano:** independientemente de las resistencias a los antibióticos ya existentes, se destruyen todos los Gram positivos / negativos, debido al efecto de eliminación de gérmenes, no se necesitan antibióticos, esto evita problemas con resistencias ya existentes o nuevas formaciones de resistencia. PTT destruye la biopelícula y los gérmenes en los bolsillos profundos, el paciente pierde menos

sustancia de raíz que durante una limpieza mecánica completa y repetida, lo que conduce a una hipersensibilidad más baja. (Terapia de Periodoncia).

PTT funciona de forma selectiva y local, ya que solo se adhiere a áreas inflamadas. Mientras tanto, la ubicación de la biopelícula y las áreas inflamadas muestra dónde es necesaria una mayor irradiación. Esta terapia es germicida y permite la eliminación de gérmenes. Es ampliamente utilizado por los odontólogos. El láser PTT elimina todas las bacterias Gram positivas y Gram negativas de manera efectiva. Durante la activación tiene lugar un único proceso térmico. Debido al bajo rendimiento, no hay daño térmico del tejido ni erosión foto-térmica por quemaduras o evaporación, ya que la irradiación tiene lugar con una potencia extremadamente baja.

**Láser de diodo:** Los láseres de diodo PTT para terapia dental generalmente tienen una capacidad de reserva de 8W, que se puede usar en diferentes terapias dentales. La longitud de onda del láser es de 810 nm y se puede usar para aplicaciones en cirugía, endodoncia, blanqueamiento, y terapia convencional con láser para terapia periodontal. <sup>26,28</sup>

### **-Láser en odontología**

Weichman y Johnson en 1971 reportaron sobre el primer uso de láser en endodoncia, cuando intentaron sellar in vitro el foramen apical mediante un láser infrarrojo de alta potencia (CO<sub>2</sub>). Mas adelante se empezaron a reportar casos del uso clínico de láser médico de CO<sub>2</sub> y Nd:YAG (acrónimo del inglés, neodymium-doped yttrium aluminium garnet, granate de itrio y aluminio dopado con impurezas de neodimio) en tejidos blandos orales. En 1990 fue cuando se comercializó el primer láser de Nd: YAG pulsado diseñado específicamente para el mercado dental. En el año 1997 la FDA dio la aprobación del primer láser de tejido duro dental verdadero Erbio: YAG y el Er, Cr: YSGG (por su acrónimo en inglés, Erbium, chromium-doped yttrium, scandium, gallium and garnet ) un año después. <sup>28</sup>

Los láseres son característicamente monocromáticos, unidireccionales, coherentes y se emiten desde un medio activo estimulado. Una vez que se produce un rayo láser, viajará en una dirección (unidireccional), aunque la divergencia del rayo varía según el tipo de láser y el hardware de transmisión asociado. Los láseres de estado sólido son un anfitrión de matriz de cristal dopado con los átomos excitables que emiten luz; tales como itrio, aluminio y granate (Er: YAG). El CO<sub>2</sub> es un láser popular donde el medio activo se sella en una cámara hermética. Los láseres de diodo tienen un semiconductor que cuando se estimula con electricidad, se emite luz láser.

<sup>26,27</sup>

Los diferentes láseres considerados para aplicaciones endodónticas son, el láser de infrarrojo cercano: diodo (810, 940, 980 y 1,064 nm) y Nd: YAG (1,064 nm), y los láseres de infrarrojo medio: erbio, cromo: YSGG (Er, Cr: YSGG; 2.780 nm) y Erblio: YAG (2.940 nm). Los láseres de infrarrojo cercano no son absorbidos por los tejidos dentinarios duros y no tienen efecto ablativo en las superficies dentinales. El efecto térmico de la radiación penetra hasta 1 mm en las paredes de la dentina, lo que permite un efecto descontaminante en las capas de dentina más profundas. <sup>26,27</sup>

También se han utilizado los láseres infrarrojos medios, como la familia de láser Erblio (2.780 nm y 2.940 nm), con puntas finas y flexibles. Los láseres infrarrojos medios son bien absorbidos por el contenido de agua de las paredes de la dentina y, en consecuencia, tienen un efecto ablativo y descontaminante superficial en la superficie del conducto radicular. <sup>23,24</sup> El láser de infrarrojo lejano CO<sub>2</sub> (10.600 nm) fue el primero en usarse en endodoncia para descontaminación y fusión de dentina apical en cirugía periapical retrógrada. Ya no se usa en este campo con la excepción de la terapia pulpar vital (pulpotomía y coagulación pulpar). <sup>28</sup>

### **Consideraciones Térmicas**

Behrens y Gutknecht en 1993, realizaron experimentos in vitro en cortes de dentina con ajustes de potencia láser que incluso tomaron en cuenta las situaciones más extremas, para determinar que no se produce daño térmico en los tratamientos con láser de diodo o láser de Nd: YAG pulsado. Al medir la superficie de la raíz, se

obtuvo una temperatura de 38 ° C durante 45 segundos a 15Hz / 1.5W. Este valor se encuentra dentro del área fisiológica. Debe tenerse en cuenta que el tejido dental se enfría más eficientemente por el flujo sanguíneo que rodea la superficie de la raíz.<sup>28,29</sup>

### **Cambios morfológicos**

La capa de debris dentinario se elimina por completo y los túbulos dentales se cierran, en su mayor parte, mediante fusión inorgánica si el láser Nd: YAG se aplica con configuraciones de 15Hz / 1.5W. Se pueden esperar resultados similares si se usa el diodo láser de 810 nm. Si se aplica el láser Er: YAG, la capa de debris dentinario se eliminará por completo y los túbulos dentales permanecerán abiertos.<sup>29</sup>

### **Efecto de desinfección**

Gutknecht y cols. lograron un promedio de 99,92% de reducción bacteriana en el conducto radicular utilizando el láser Nd: YAG. En 1994. Rooney y cols. junto con Hardee y cols. describieron reducciones del 99% al usar un láser Nd: YAG en diferentes diseños experimentales y combinaciones bacterianas. Otros estudios examinaron el efecto de profundidad del láser en la dentina del conducto radicular. En 1997, Klinke y cols. pudieron probar un efecto bactericida del láser Nd: YAG a una profundidad de 1,000 µm. En comparación, una solución de enjuague, como NaOCl, solo logra una reducción bacteriana efectiva hasta una profundidad de 100 µm.<sup>26</sup>

### **Indicaciones y contraindicaciones del láser en endodoncia**

-Desinfección e irrigación del conducto radicular: los diversos usos del láser en los tratamientos del conducto radicular son los siguientes:

1. Preparación de la cavidad de acceso y agrandamiento del orificio del conducto radicular.
2. Preparación de la pared del conducto radicular.
3. Barrido del conducto radicular e irrigación.

4. Eliminación de restos de pulpa y escombros en el agujero apical.
5. Esterilización o desinfección de canales infectados.
6. Obturación con gutapercha o resina.
7. Eliminación de materiales de sellado de cavidades temporales, materiales de sellado del conducto radicular e instrumentos fracturados en conductos radiculares.

### **-Usos de Láser en Endodoncia:**

Se utilizan para preparación de la cavidad de acceso, los láseres de Er, Cr: YSGG (2780nm) y Er: YAG (2940nm) se pueden usar para la preparación de la cavidad de acceso, la formación y limpieza de los conductos radiculares. Preparación de la pared del conducto radicular: los láseres como Er: YSGG (2780 nm), Er: YAG (2940 nm) y Nd: YAG (1064 nm) se utilizan en 3D para la preparación de la pared del conducto radicular. Cuando la fibra láser no se puede insertar en los conductos radiculares, se deben utilizar limas, seguidos del láser. La capa de debris dentinario se elimina por completo y los túbulos dentinarios se obstruyen en su mayor parte cuando el láser pulsado Nd: YAG se aplica a 15 Hz / 1,5 W. Los láseres Nd: YAG se utilizan ampliamente para eliminar los restos de pulpa y debris en el foramen apical, control de hemorragias y estimulación de células que rodean el ápice de la raíz, así como desbridamiento en la superficie. <sup>26,27,28</sup>

### **Indicaciones**

- a. Dientes con canal lateral que conduce a compromiso periodontal.
- b. Dientes con necrosis pulpar y pulpitis purulenta.
- c. Dientes con lesiones periapicales iguales a 5 mm o mayores.
- e. Dientes que han sido tratados al menos 3 meses sin éxito.

## **Contraindicaciones**

- a. En casos de periodontitis avanzada.
- b. Una fractura profunda de la corona y la raíz.
- c. Conductos radiculares obliterados en dientes tratados con endodoncia.

En endodoncia, el láser usa los efectos fototérmicos y fotomecánicos resultantes de la interacción de diferentes longitudes de onda y diferentes parámetros en los tejidos objetivo.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El objetivo de la endodoncia se basa en el sellado tridimensional de los conductos radiculares, previo a la conformación y desinfección de estos. El fracaso de los tratamientos de endodoncia se debe principalmente a la resistencia bacteriana y a la evolución del cuadro endodóntico a una periodontitis periapical. La mayoría de los estudios se enfoca en la creación de nuevos irrigantes para la desinfección bacteriana y que cumplan con todos los aspectos de un irrigante ideal siendo este efecto antibacteriano, baja tensión superficial, eliminación tejido orgánico e inorgánico, no citotóxico, etc. Actualmente el irrigante mayormente utilizado para la terapia endodóntica es el hipoclorito de sodio, el cual es un irrigante agresivo en caso de pasar a los tejidos periapicales. Hoy en día se busca un coadyuvante o un irrigante ideal para usar el hipoclorito en menores cantidades y en menores concentraciones o sustituir el hipoclorito de sodio.

Las nanopartículas han mostrado propiedades prometedoras en el campo de la medicina, con interés en el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos. Se ha comprobado que las nanopartículas de cobre, zinc, titanio, magnesio y oro poseen actividad antimicrobiana. Por lo que se recomendó en los últimos años probar su efecto en los conductos radiculares y así poder utilizarlas como futuros irrigantes o como medicamento intraconducto. Actualmente hay varios estudios que llegan a la conclusión que las nanopartículas tienen efecto antimicrobiano similar al hipoclorito de sodio, con la diferencia que estas necesitan tiempo de exposición prolongado a los microorganismos; pudiéndose utilizar como: irrigantes, medicamento intraconducto ó como un coadyuvante junto con el hipoclorito de sodio.

Bermudez Jiménez y cols. (2018) reportan un del gel de quitosano con nanobarras de oro activado por terapia fototérmica, el cual tuvo resultados positivos como agente antimicrobiano y también se probó en fibroblastos resultando no tóxico para estos. C. Sámano-Valencia y cols. y Bermudez Jiménez y cols. crearon y probaron un gel de nanopartículas de plata y uno de nanobarras de oro, y obtuvieron resultados prometedores en cuanto a la actividad microbiana. Siguiendo con esta

línea de investigación, se plantea probar el efecto antibacteriano del gel de quitosano con nanobarras oro y del gel de quitosano con nanopartículas de plata junto con terapia fototérmica en un biofilm de *E. faecalis* producido en órganos dentales extraídos.

#### **4. JUSTIFICACIÓN**

Debido a que la principal causa de fracaso endodóntico es la presencia de microorganismos, se propone en este estudio comprobar el efecto antibacteriano del hidrogel de nanopartículas de plata (AgNPs) y el hidrogel de Nanobarras de Oro (AuNRs) activada por medio de Terapia Fototérmica, y aplicarlos como coadyuvantes para la desinfección de los conductos radiculares. Se plantea utilizar un modelo de biofilm en órganos dentales extraídos.

#### **5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Tendrá el hidrogel de Nanopartículas de plata (Ch:AgNPs) y el hidrogel de Nanobarras de Oro (Ch:AuNRs) activadas por láser por medio de Terapia Fototérmica, efecto antimicrobiano sobre un biofilm de *E. faecalis* de 24 horas creado en órganos dentales extraídos?

#### **6. OBJETIVOS**

##### **OBJETIVO GENERAL**

Comprobar el efecto antimicrobiano de un hidrogel de Nanopartículas de plata (AgNPs) y de un hidrogel de Nanobarras de Oro (AuNRs) activado por láser por medio de Terapia Fototérmica Plasmática, sobre un biofilm de *E. faecalis* creado en órganos dentales extraídos.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Crear un biofilm de 24 horas de *E. faecalis* en conductos radiculares de órganos dentales extraídos.
2. Caracterizar el biofilm formado utilizando Microscopía Electrónica de Barrido.
3. Comprobar el efecto antibacteriano de un hidrogel de Nanopartículas de plata (AgNPs), sobre un biofilm de *E. faecalis* creado en órganos dentales extraídos.
4. Comprobar el efecto antibacteriano de un hidrogel de Nanobarras de Oro (AuNRs) activado por láser por medio de Terapia Fototérmica, sobre un biofilm de *E. faecalis* creado en órganos dentales extraídos.
5. Observar por medio de Microscopía Electrónica de Barrido el efecto del postratamiento de los órganos dentales.

## **7. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Experimental ex-vivo

## **8. HIPÓTESIS**

El hidrogel de Nanopartículas de plata (AgNPs) y el hidrogel de Nanobarras de Oro (AuNRs) activado por láser por medio de Terapia Fototérmica, sobre un biofilm de *E. faecalis* tiene efecto antibacteriano.

## **9. HIPÓTESIS NULA**

El hidrogel de Nanopartículas de plata (AgNPs) y el hidrogel de Nanobarras de Oro (AuNRs) activado por láser por medio de Terapia Fototérmica, sobre un biofilm de *E. faecalis* no tiene efecto antibacteriano.

## **10. METODOLOGÍA**

### **LUGAR DE REALIZACIÓN:**

- Laboratorio de Materiales I de la Facultad de Ciencias de la U.A.S.L.P.
- Laboratorio de Nanobiomateriales de la Facultad de Estomatología de la U.A.S.L.P.
- Instituto de Metalurgia de la U.A.S.L.P.

## **11. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS**

Este proyecto utilizará como muestras órganos dentales extraídos de pacientes por motivos de pérdida periodontal, caries o por motivos de ortodoncia. No importando el estado de los órganos dentales o de su diagnóstico pulpar, siempre y cuando cumplan con los criterios de inclusión.

### **INCLUSIÓN**

- Raíces monoradiculares órganos dentales anteriores y premolares monoradiculares.
- Longitud mínima 14 mm.
- Conductos permeables.
- Curvaturas no mayores a 30° , determinadas por el método de Schneider.

### **EXCLUSIÓN**

- Raíces con longitudes menores a 14 mm.
- Raíces con curvaturas mayores a 30°.
- Conductos no permeables.

## ELIMINACIÓN

- Conductos con instrumento fracturado.
- Conductos con transportaciones y perforaciones.
- Raíces que pierden estructura durante la estandarización a 14mm.

## 12. DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

### Variables Independientes

1. Hidrogel de Nanopartículas de Plata:

**-Definición Conceptual:**

Nanopartículas de plata

**-Definición Operacional:**

Se utilizó 1ml de hidrogel de AgNP para la eliminación de un biofilm de *E. faecalis* formado en conductos radiculares de dientes extraídos.

2. Hidrogel de Nanobarras de Oro:

**-Definición Conceptual:**

Nanobarras de Oro

**-Definición Operacional:**

Se utilizó 1ml de hidrogel de AuNRs para la eliminación de un biofilm de *E. faecalis* formado en conductos radiculares de dientes extraídos.

**Escala:** Continua de razón.

3. Hipoclorito de Sodio:

### **-Definición Conceptual:**

Compuesto químico altamente oxidante, utilizado para eliminación bacteriana. Se usa para la desinfección de superficies, blanqueamiento, eliminación de olores y desinfección del agua.

### **-Definición Operacional:**

Se utilizó 1ml NaOCl para la eliminación de un biofilm de *E. faecalis* formado en conductos radiculares de dientes extraídos.

**Escala:** Continua de razón.

## **Técnica de Activación Hidrogeles**

### 1. Terapia Fototermica

**-Definición Conceptual:** Radiación electromagnética en forma de rayos infrarrojos que se propone para el tratamiento de diversas enfermedades. El calor es el método actual de la terapia que mata a las células diana. Utiliza longitud de onda que es menos energética y por tanto menos dañina para las células y tejidos.

**-Definición Operacional:** Se utilizo un láser diodo (Quantum IR 810, Laser Systems). Se aplico sobre los hidrogeles durante 2 min con una longitud de onda de 810nm a una potencia de 200mW.

**Escala:** Categórica Nominal

## **Variables Dependientes**

Disminución de Carga Bacteriana

### **-Definición Conceptual:**

Eliminación total o parcial de celulas bacterianas en forma planctonica o en forma de biofilm en alguna superficie.

#### **-Definición Operacional:**

Se evaluó la disminución bacteriana mediante conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) y verificación física de eliminación de biofilm.

**Escala:** Continua de razón.

### **13. ANALÍISIS ESTADÍSTICO**

Se analizó la distribución de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para el análisis de los datos se utilizó la prueba de ANOVA de dos vías y para la comparación múltiple se aplicó la prueba de Tukey. Se estableció un valor de  $p < 0.05$ .

Programa estadístico: GraphPad Prism v9.0

### **14. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Estomatología, UASLP, con clave **CEI-FE-009-020**.

Este estudio tiene riesgo bajo ya que se realizó en órganos extraídos. Los residuos peligrosos biológico infecciosos generados fueron manejados y dispuestos, según lo indica el reglamento que rige el laboratorio multidisciplinario de la institución, que a su vez está basado en la Norma Oficial Mexicana en el apartado **NOM-087-ECOL-SSA1- 2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico- infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo**. La presente Norma Oficial Mexicana establece la clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos así como las especificaciones para su manejo.

## 15. TÉCNICA O FASE EXPERIMENTAL

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 15.1. PREPARACIÓN DE LOS GELES DE NANOPARTÍCULAS

Los hidrogeles se prepararon según la metodología de Bermúdez-Jiménez C y cols.<sup>11</sup>

-Gel de Nanopartículas de Plata con Quitosán (Ch-AGNPs)

-Gel de Nanobarras de Oro con Quitosán (Ch-AUNRs) + PPTTP

#### PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE NANOBARRAS DE ORO

A continuación, se describe la preparación de la solución de nanobarras de oro.

Para esta metodología se utilizó:

- 1) Ácido ascórbico
- 2) Nitrato de plata
- 3) CTAB
- 4) Borohidruro de Sodio

Se realizó a partir de dos reacciones:

#### PRIMERA REACCIÓN

##### **25 ml CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio)**

(0.20M) (0.025L) (364.48 g/mol)

**1.8224g**

Este debe tener un color incoloro.

##### **2. HAuCl<sub>4</sub> [ácido tetracloroáurico (III)]**

$C_1V_1=C_2V_2$

PRIMERA REACCION 0.0005M: **0.123mL**

SEGUNDA REACCION 0.001M: **0.246mL**

$V_1 = (0.001M) (25mL) / (0.105M)$

\*tiene que estar congelado

### 3. 10ml NaBH<sub>4</sub> (Borohidruro de Sodio)

(0.010 M) (0.01L) (37.83 g/mol) = **0.0038g**

## SEGUNDA REACCIÓN

### 5. AgNO<sub>3</sub> 10ml (Nitrato de plata)

(0.0040 M) (0.01L) (169.87 g) = **0.0067g**

### 4. Ácido Ascórbico 10 ml 0.0788M

(0.0788M) (0.01L) (176.12 g) = 0.1387g

## PROCEDIMIENTO

1. Se colocó la solución de CTAB, 2.5ml en un vaso de precipitados en la placa de agitación y calentamiento a una temperatura media (36°C). posteriormente se agregaron 2.5ml de HAuCl<sub>4</sub> 0.0005M. Se pesó 0.0038g de borohidruro y se mezcló con agua helada (10ml), se tomaron 600 microlitros y se agregaron a la mezcla, la solución cambió de un color amarillo-a color café. Se dejó en agitación durante 1hr.
2. En otro vaso de precipitados se añadieron 5 ml de CTAB (0.20M) y se colocó en la placa de agitación y calentamiento a temperatura media (36°C). A la solución anterior se agregaron 725 microlitros de solución de AgNO<sub>3</sub> (0.0040 M) y 5ml de solución de HAuCl<sub>4</sub> (0.001M). Se adicionaron 130 microlitros de Ácido Ascórbico (0.0788M). La solución de color amarillo debe pasar a ser incolora. Si no cambia se debe de colocar un poco mas de A.A.
3. Se agregaron 12 mL de la primera solución mezclada y se colocó en la segunda solución. Se dio un tiempo de 15 a 30 min y esta cambió a un color morado oscuro. La segunda solución debe estar a una temperatura de 27° a 30° C.
4. Se midieron las nanopartículas creadas en el Espectrofotómetro UV-VIS, la solución tuvo 520nm a 540nm en el primer plasmón y de 790nm a 830 nm en el segundo, con una absorbancia de 1 a 1.2.

5. Proceso de purificación: Se centrifugó a 12mil revoluciones por minuto (rpm) por 30 minutos para eliminar el CTAB. Se retiró el CTAB y lo remanente fue la solución de barras de oro.

### **Caracterización de las Nanobarras de Oro**

La absorcion UV-VIS fue obtenida utilizando espectrofotometro CHEMUSB4-VIS-NIR (Ocean Optics, FL).

### **PREPARACIÓN Y ADECUACIÓN DEL GEL:**

La preparación del hidrogel se realizó a base de la metodología reportada por Bermúdez- Jiménez y por Sámano - Valencia, con las modificaciones apropiadas para el proyecto a realizarse.

Se hicieron varias mezclas y pruebas para obtener exactamente las medidas para que el gel de nanobarras de oro y nanopartículas de plata, quedarán a una consistencia adecuada en cuanto a fluidez para poder ser utilizados en los conductos radiculares.

Los siguientes fórmulas fueron las cantidades óptimas obtenidas para la formación de los geles:

1. 0.175 g de quitosán
2. 19.2 ml de AuNRs/ AgNPs
3. 0.8 ml ácido acético

## 15.2. RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN ÓRGANOS DENTALES

- a. Recolección 80 órganos dentales monoradiculares extraídos. (Se recolectaron piezas de más por los que se desechan en los criterios de eliminación y exclusión).
- b. Estandarización de los órganos dentales a 15 mm de largo.
- c. Preparación para la colonización bacteriana: Permeabilización de las muestras con una lima K #10 y #15.
- d. Toma de radiografías de cada pieza para obtener el ángulo por medio del método de Schneider y para observar cualquier irregularidad y descartar según los criterios de exclusión y eliminación.
- e. Instrumentación de las muestras: se utilizó limas AF ROTARY (FANTA, DENTAL MATERIALS) ®. Se irrigó con 2mL de NaOCl 5.25% entre cada instrumento.
- f. Se dividieron longitudinalmente los órganos dentales a la mitad.
- g. Limpieza y esterilización de las muestras: Se colocaron en baño de ultrasonido con hipoclorito de sodio al 5.25% por 4 minutos para remover los remanentes de tejido orgánico, seguido por EDTA al 17% durante 4 minutos para remoción del tejido inorgánico, por último, con agua destilada por 4 minutos. Las piezas se dividieron aleatoriamente en grupos, se colocaron en bolsas para esterilización y se esterilizaron en autoclave a 121°C por 20 min.

## 15.3. FORMACIÓN DEL BIOFILM POR MÉTODO ESTÁTICO

El microorganismo utilizado, *Enterococcus faecalis*, ATCC® 29212™, Microbiologics, St. Cloud, MN, US, fue obtenido del cepario del Laboratorio de Materiales II, de la Facultad de Ciencias, UASLP.

Se reactivaron las cepas de *E. Faecalis* cultivadas en caldo de Tioglicolato mediante la siembra por la técnica de aislamiento en una caja de Petri con Agar Mueller Hinton procediendo a su incubación durante 24 horas a 37°C.

1. Una vez pasadas las 24 horas de incubación, se realizó el inóculo de *E. faecalis* ajustado a una concentración 0.5 Mcfarland; posteriormente se tomaron 10 µl del inóculo y se colocaron en la raíz de cada muestra, cada una por triplicado. Se procedió a acomodar las muestras en una caja de Petri sobre una servilleta estéril humedecida para su incubación por 24 horas. (Figura 1 y 2).
2. Pasadas las 24 horas de incubación y una vez formado el biofilm, en un ambiente estéril se procedió a realizar la prueba con los geles y el láser.

**Figura 1 y 2.**



Figura 1 y 2. Colocación de inóculo de *E. faecalis* en la longitud del conducto radicular. Se colocaron las muestras sobre una cama húmeda de papel para mantener la humedad durante el periodo de incubación en la incubadora microbiológica.

#### 15.4. PRUEBA DE LOS HIDROGELES MEDIANTE LÁSER EN BIOFILM

Las muestras se dividieron aleatoriamente en grupos de la siguiente manera:

**Tabla 1.** Distribución de las muestras por grupos

<b>GRUPO 1</b>	<b>GRUPO 2</b>	<b>GRUPO 3</b>	<b>GRUPO 4</b>
n= 15	n= 15	n= 15	n= 15
Gel de Quitosán con Nanobarras de Oro + PPTT (Ch:AuNRs)	Gel de Quitosán con Nanopartículas de Plata + PPTT (Ch:AgNPs)	Control de Crecimiento Agua destilada estéril	Control de Inhibición Hipoclorito 5.25%

El siguiente procedimiento se realizó para cada grupo:

1. Se tomó cada muestra y se lavó completa con agua estéril para eliminar bacterias en forma planctónica. Se realizó la primera toma de muestra (pre tratamiento) con una punta de papel calibre 30 colocándola en el conducto durante 1 min y se transfirió a un tubo con medio de cultivo de Tioglicolato, llevando al vortex durante 30 seg.
2. Se secó el conducto radicular con una punta de papel para eliminar la humedad del conducto y así al colocar el láser para que este no fuera a absorber y disminuyera el efecto del láser.
3. Se colocó en toda la longitud del conducto el gel de nanorods de oro o el de nanopartículas de plata, agua o hipoclorito de sodio y posteriormente, se indució directamente el láser diodo 810nm a 200mW por 2 minutos, en cada una de las muestras.

4. Posteriormente, se lavó la muestra con agua estéril y se colocó una punta de papel #35 y se paso por todo el conducto. La punta de papel se colocó en un tubo con caldo de cultivo Mueller Hinton y se dejó en incubación durante 24 horas.
5. Se colocaron los tubos con las muestras en la estufa bacteriológica a  $36^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.
6. Pasadas las 24 horas de incubación se realizaron diluciones de cada tubo de los tubos con muestras y posteriormente descargas de 100  $\mu\text{l}$  en placas de Petri con agar Mueller Hinton mediante el método de diseminación en superficie en placas de agar. Se colocaron las placas en la estufa bacteriológica a  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.
9. Pasadas las 24 horas se contabilizaron las colonias de cada una de las placas.
10. Aleatoriamente, las muestras se llevaron al Microscopio Electrónico de Barrido.

## 16. RESULTADOS

Los resultados estadísticos descriptivos e inferenciales se realizaron a base de el conteo de unidades formadoras de colonias, utilizando el programa GraphPad Prism 09. (Tabla 1, 2 y 3).

**Tabla 2. Datos descriptivos**

	UFCs PRE TRATAMIENTO Ch-AuRNs	UFCs POST TRATAMIENTO Ch-AuRNs	UFCs PRE TRATAMIENTO Ch-AgNPs	UFCs POST TRATAMIENTO Ch-AgNPs	UFCs PRE TRATAMIENTO Agua Esteril	UFCs POST TRATAMIENTO Agua Esteril	UFCs PRE TRATAMIENTO NaOCl 5.25%	UFCs POST TRATAMIENTO NaOCl 5.25%
<b>NUMERO DE VARIABLES</b>	15	15	15	15	15	15	15	15
<b>MÍNIMO</b>	40	1.000	540	353.0	2197	2197	150	1.000
<b>MAXIMO</b>	829	2.000	3218	2505	7968	7968	2492	1.000
<b>RANGO</b>	789	1.000	2678	2150	5783	5783	2342	0.000
<b>MEDIA</b>	288.4	1.067	1639	991.1	4909	4909	931	1.000
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>	244.5	0.2582	720.5	547.2	1683	1683	706.1	0.000
<b>ERROR ESTÁNDAR MEDIA</b>	63.13	0.06667	186	142.3	423	423	182.13	0.000
<b>COEFICIENTE DE VARIACION</b>		21.21%		55.21%		33.37%		0.000%

**Tabla 3. Prueba de Kolmogorov- Smirnov. Prueba Normalidad.**

	UFCs PRE TRATAMIENTO Ch-AuRNs	UFCs POST TRATAMIENTO Ch-AuRNs	UFCs PRE TRATAMIENTO Ch-AgNPs	UFCs POST TRATAMIENTO Ch-AgNPs	UFCs PRE TRATAMIENTO Agua Esteril	UFCs POST TRATAMIENTO Agua Esteril	UFCs PRE TRATAMIENTO NaOCl 5.25%	UFCs POST TRATAMIENTO NaOCl 5.25%
<b>KS DISTANCE</b>	0.1606	0.5352	0.1693	0.1937	0.1111	0.1111	0.1991	1.000
<b>VALOR DE P</b>	>0.1000	<0.0001	>0.1000	>0.1000	>0.1000	>0.1000	>0.1000	<0.0001
<b>PRUEBA NORMALIDAD (alpha= 0.05)?</b>	SI	NO	SI	SI	SI	SI	SI	NO
<b>VALOR P</b>	NS	****	NS	NS	NS	NS	NS	****

**Tabla 4. Comparación entre grupos. Prueba Tukey.**

	Dif. Media	RESUMEN	VALOR P
<b>AuRNs Pre vs. AuRNs Post</b>	287.3	ns	0.9170
<b>AuRNs Post vs. AgNPs Post</b>	-990.0	****	0.0122
<b>AgNPs Pre vs. AgNPs Post</b>	647.5	ns	0.2289
<b>NaOCl vs AuRNs</b>	-0.06667	ns	>0.9999
<b>NaOCl vs AgNPs</b>	-990.1	*	0.0207
<b>Agua vs. AuRNs</b>	4968	****	<0.0001
<b>Agua vs. AgNPs</b>	3918	****	<0.0001
<b>Agua vs. NaOCl</b>	4908	****	<0.0001

## 16.1. RESULTADOS GRUPO 1: GEL DE QUITOSAN CON NANOBARRAS DE ORO Y TERAPIA FOTOTÉRMICA (Ch-AuRNs)

En el conteo de unidades formadoras de colonias a partir de la primera dilución se determinó una disminución bacteriana notoria y a la última dilución la eliminación bacteriana tuvo un porcentaje de Inhibición del 95.21%. (Tabla 3)

En comparación con el grupo control positivo hubo una diferencia significativa\*\*\*\* con un valor de  $p = <0.0001$ . En comparación con el grupo control negativo, que fue el NaOCl 5.25% contra AuRNs, no hubo una diferencia significativa, con un valor  $p = >0.9999$ . (Gráfica 1)

**Tabla 5. Inhibición bacteriana grupo 1.**

Muestra	Mc farland PRE	Mc farland POST	Log 10 de UFC's por ml PRE	Log 10 de UFC's por ml POST	Porcentaje de inhibición %
1	>7.5	0	10.7781513	0	100
2	>7.5	0	11.7014816	0	100
3	>7.5	0	11.447158	0	100
4	>7.5	0	11.748188	0	100
5	>7.5	0	11.3422252	0	100
6	>7.5	0	11.9137609	0	100
7	>7.5	0	10.6414741	0	100
8	>7.5	0	11.857634	0	100
9	>7.5	0	11.3802112	0	100
10	>7.5	0	11.0310043	0	100
11	>7.5	0	11.5963771	0	100
12	>7.5	0	10.9777236	0	100
13	>7.5	0	11.5633624	8.30103	28.2126625
14	>7.5	0	5.41664051	0	100
15	>7.5	0	6.81277971	0	100
					95.21%

## 16.2. RESULTADOS GRUPO 2: GEL DE QUITOSAN CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y TERAPIA FOTOTÉRMICA (Ch-AgNPs)

En el conteo de unidades formadoras de colonias a partir de la primera dilución no hubo disminución bacteriana notoria y a la última dilución la eliminación bacteriana tuvo un porcentaje de Inhibición de 5.56%. (Tabla 4)

En comparación con el grupo control positivo hubo una diferencia significativa\*\*\*\* con un valor de  $p = <0.0001$ . En comparación con el grupo control negativo, que fue el NaOCl 5.25% contra AgNPs, hubo una diferencia significativa\*, con un valor  $p=0.0207$ . (Gráfica 1)

**Tabla 6. Inhibición bacteriana grupo 2.**

Muestra	Mc farland PRE	Mc farland POST	Log 10 de UFC's por ml PRE	Log 10 de UFC's por ml POST	Porcentaje de inhibición %
1	>7.5	>7.5	12.4149733	11.5477747	6.98510273
2	>7.5	>7.5	12.8131805	12.2013971	4.77464129
3	>7.5	>7.5	12.9242793	11.8744818	8.12267706
4	>7.5	>7.5	12.8754086	12.1522883	5.61628947
5	>7.5	>7.5	12.845098	12.3984608	3.47710223
6	>7.5	>7.5	11.7242759	11.161368	4.8012165
7	>7.5	>7.5	12.7558749	12.15351	4.72225444
8	>7.5	>7.5	12.7595923	11.8704039	6.96878381
9	>7.5	>7.5	12.6029277	11.7986506	6.3816685
10	>7.5	>7.5	12.4913617	11.7395723	6.01847395
11	>7.5	>7.5	12.6029277	11.94939	5.18560228
12	>7.5	>7.5	12.0008677	11.6242821	3.13798664
13	>7.5	>7.5	12.6618127	11.8633229	6.30628367
14	>7.5	>7.5	12.5378191	11.9294189	4.85251992
15	>7.5	>7.5	12.8635608	12.0799045	6.09206355
					5.56%.

### 16.3. RESULTADOS GRUPO 3: GRUPO CONTROL POSITIVO/ CONTROL DE CRECIMIENTO: AGUA ESTÉRIL.

La eliminación bacteriana tuvo un porcentaje de Inhibición de 0.0 %. (Tabla 5)

En comparación con el grupo control negativo hubo una diferencia significativa\*\*\*\* con un valor de  $p = <0.0001$ .

**Tabla 7. Inhibición bacteriana grupo 3.**

Muestra	Mc farland PRE	Mc farland POST	Log 10 de UFC's por ml PRE	log 10 de UFC's por ml POST	Porcentaje de Inhibición %
1	>7.5	>7.5	11.5078559	11.5078559	0
2	>7.5	>7.5	11.3881012	11.3881012	0
3	>7.5	>7.5	11.7283538	11.7283538	0
4	>7.5	>7.5	11.8184239	11.8184239	0
5	>7.5	>7.5	11.5242663	11.5242663	0
6	>7.5	>7.5	11.7252581	11.7252581	0
7	>7.5	>7.5	11.3418301	11.3418301	0
8	>7.5	>7.5	11.6853834	11.6853834	0
9	>7.5	>7.5	11.7664128	11.7664128	0
10	>7.5	>7.5	11.7994784	11.7994784	0
11	>7.5	>7.5	11.8069935	11.8069935	0
12	>7.5	>7.5	11.9020029	11.9020029	0
13	>7.5	>7.5	11.7185017	11.7185017	0
14	>7.5	>7.5	11.5912873	11.5912873	0
15	>7.5	>7.5	11.6693169	11.6693169	0
					0%

#### 16. 4. RESULTADOS GRUPO 4: GRUPO CONTROL NEGATIVO/ CONTROL DE INHIBICIÓN: HIPOCLORITO DE SODIO. (NaOCI 5.25%)

Este grupo tuvo total eliminación de microorganismos desde la primera dilución. La eliminación bacteriana tuvo un porcentaje de Inhibición de 100%. (Tabla 6)

En comparación con el grupo control positivo hubo una diferencia significativa\*\*\*\* con un valor de  $p = <0.0001$ . (Gráfica 1)

**Tabla 8. Inhibición bacteriana grupo 4.**

Muestra	Mc farland PRE	Mc farland POST	Log 10 de UFC's por ml PRE	Log 10 de UFC's por ml POST	Porcentaje de Inhibición %
1	>7.5	0	10.0863598	0	100
2	>7.5	0	10.5370631	0	100
3	>7.5	0	10.5250448	0	100
4	>7.5	0	10.7456992	0	100
5	>7.5	0	10.3951516	0	100
6	>7.5	0	9.34242268	0	100
7	>7.5	0	9.64738297	0	100
8	>7.5	0	10.6763277	0	100
9	>7.5	0	10.8019522	0	100
10	>7.5	0	10.7252581	0	100
11	>7.5	0	10.869701	0	100
12	>7.5	0	10.967548	0	100
13	>7.5	0	10.6442416	0	100
14	>7.5	0	10.7904259	0	100
15	>7.5	0	10.7173376	0	100
					100%

**Figura 2. Diferencia entre Grupos**

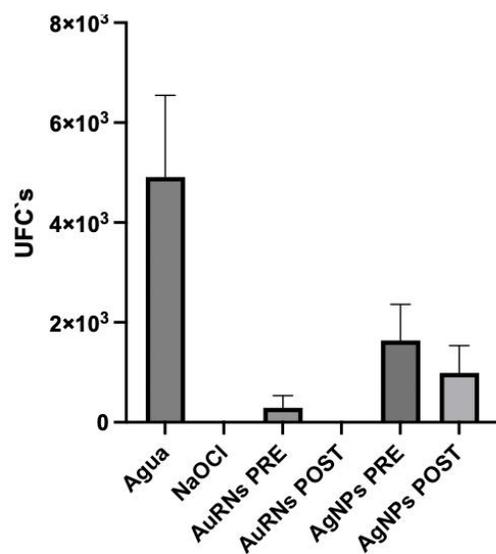


Figura 2. Se observa el pre y post conteo de UFCs entre los grupos. En el grupo de NaOCl y AuNRs se observa una eliminación bacteriana notoria y en el de AgNPs, hay eliminación bacteriana en comparación con el pre conteo UFCs.

## 16.5 .RESULTADOS MEB

Aleatoriamente se llevaron muestras al MEB, pre tratamiento y post tratamiento con un biofilm de *E. faecalis* de 24 horas.

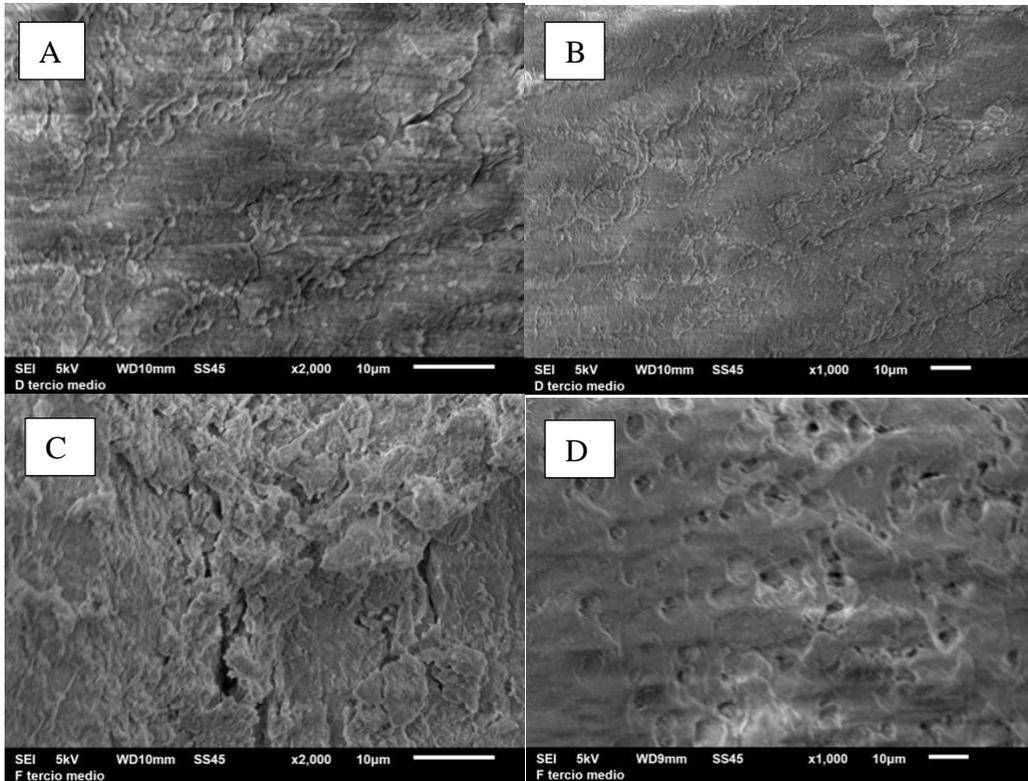


Figura 3. A y B. Se observa a una magnificación de 2000x y 1000X colonias aisladas y biofilm de *E. faecalis* y barrillo dentinario. C y D. Son muestras con tratamiento de Ch:AuRNs, observa que no hay colonias ni biofilm de *E. faecalis*, y se ven tubulillos libres de microorganismos, se observa barrillo dentinario.

## 17. DISCUSIÓN

Debido a la limitada acción de eliminación bacteriana promovida por los irrigantes de uso común, se han investigado soluciones alternativas. Se han observado resultados positivos de antimicrobianos y antibióticos con la adición de nanopartículas en diferentes materiales dentales. Esto ha alentado nuevas tecnologías como el uso de nanopartículas para la desinfección de los conductos radiculares durante la terapia endodóntica, utilizándose en medicamentos intraconducto o irrigantes.<sup>2</sup> Otros métodos son el uso de láser (Terapia Foto Térmica) junto con las nanopartículas, el uso del láser y el hipoclorito de sodio, o el uso del láser individual en el conducto radicular, terapia PIPS, etc.

En este trabajo se propuso poner a prueba un gel de nanopartículas de plata y uno de nanorods de oro como un coadyuvante para la terapia endodóntica. Se propone su uso su aplicación en los casos de infecciones agudas y crónicas como en la periodontitis apical, se propone que sea aplicado por unos minutos adicionado con láser, y así tener una mejor desinfección del conducto radicular.

El *E. faecalis* ha sido la especie más frecuentemente detectada en dientes tratados con endodoncia, con valores de prevalencia que alcanzan hasta el 90% de los casos. Los dientes con enfermedad postratamiento tienen aproximadamente nueve veces más probabilidades de albergar *E. faecalis* que los casos de enfermedad primaria. Debido a que *E. faecalis* es la especie que se encuentra con mayor frecuencia en los dientes tratados en forma de biopelícula y tiene atributos que pueden permitirle sobrevivir en los conductos tratados, esta especie ha sido considerada como el principal patógeno involucrado en el fracaso del tratamiento.<sup>3</sup> Por esta razón se decidió crear un biofilm (24hrs) de *E. faecalis* en conductos radiculares para poner a prueba los geles de nanopartículas. Ya que el *E. faecalis* es uno de los patógenos mas difíciles de eliminar en los conductos radiculares, se decidió trabajar con este para formar un biofilm y poner a prueba los hidrogeles de ChAuRNP y ChAgNP.

Las nanopartículas de plata pueden lisar la membrana celular bacteriana e interactuar con el material genético, lo que conduce a un aumento de los efectos bactericidas. <sup>4</sup> Krishnan y col. sugirieron que la concentración bactericida efectiva de Ag-NP contra *E. faecalis* es de 5 mg / ml. <sup>3</sup> Wu y cols evaluaron el modo de aplicación de nanopartículas de plata (AgNP) sobre el crecimiento de biopelículas de *E. faecalis*, se concluyó que la solución de jeringa de AgNP al 0.1% no fue capaz interrumpir la integridad estructural de la biopelícula, pero la solución de hidrogel de AgNP al 0.2% eliminó significativamente el crecimiento residual de *E. faecalis* e interrumpió la biopelícula.<sup>16</sup> Varios estudios han puesto a prueba las nanopartículas de plata en forma de solución irrigante sin resultados positivos ya que estas necesitan un tiempo de trabajo estable para crear un efecto antibacteriano ya que en forma de irrigante es una forma de rápida y más fluida. Por lo cual las soluciones en forma de hidrogel al colocarse más tiempo sobre un biofilm tiene mejores resultados como lo confirma Wu y cols. Estando de acuerdo con Wu y cols. las soluciones que pusimos a prueba se dejaron durante 1 y 2 min sobre el biofilm.

La adición de nanopartículas de plata para ser utilizadas como irrigantes en el tratamiento de endodoncia no ha tenido mayor éxito, ya que la mayoría de estudios concluyen en que para que las AgNP tengan mayor efecto se necesita que se queden más tiempo en contacto con las bacterias como se mencionó anteriormente, contacto mayor a 1hr. Por lo que no se ha conseguido tener los resultados esperados al ser utilizadas con una solución irrigadora en el conducto radicular además que ya hay bacterias resistentes a las AgNP. <sup>17,22</sup> En nuestro trabajo el hidrogel de nanopartículas de plata y de nanorods de oro se dejó un tiempo de 1 y 2 minutos pero con la adición de láser ya que esta confirmado por Sarda RA, Shetty RM y cols. que las terapias combinadas y más si es con láser tienen un mayor y más rápido efecto en cuanto a la desinfección bacteriana. En nuestras pruebas, el hidrogel de ChAgNPs, en comparación con el grupo control negativo tuvo diferencia significativa, siendo la eliminación bacteriana del ChAgNPs muy poca, sin embargo si tuvo eliminación bacteriana comparado con el conteo de UFCs pre-tratamiento

pero aún así sin presentar diferencia significativa. El grupo control positivo contra el ChAgNPs sí mostró una diferencia significativa por lo que sí se tuvo un efecto de eliminación bacteriana. La razón de baja eliminación bacteriana de este gel es que definitivamente se necesita más tiempo de exposición al biofilm, de 5 a 10 min en lugar de 1 o 2 minutos, como se ha mencionado anteriormente y coincidiendo con varios autores se necesita un tiempo de contacto hasta de 1 hora.

Los diferentes láseres considerados para aplicaciones endodónticas son los láser de infrarrojo cercano — diodo (810, 940, 980 y 1,064 nm) y Nd: YAG (1,064 nm) - y los láser de infrarrojo medio — Erblio, Cromo: YSGG (Er, Cr: YSGG; 2780 nm) y Erblio: YAG (2940 nm). Los láseres de infrarrojo cercano como Nd: YAG (de 803 nm a 1340 nm) fueron los primeros en utilizarse en forma de fibra óptica para la raíz radicular. Los láseres de infrarrojo cercano no son absorbidos por los tejidos dentinarios duros y no tienen ningún efecto ablativo en las superficies dentinarias. El efecto térmico de la radiación penetra hasta 1 mm en las paredes dentinarias, lo que permite un efecto descontaminante en las capas de dentina más profundas. También se han utilizado los láseres de infrarrojos medios, como la familia de láseres Erblio (2780 nm y 2940 nm), con puntas finas y flexibles. Los láseres de infrarrojos medios son bien absorbidos por el contenido de agua de las paredes dentinarias y, en consecuencia, tienen un efecto ablativo y descontaminante superficial en la superficie del conducto radicular.<sup>24</sup>

Las nanopartículas de oro pueden fabricarse en varias formas como nanoesferas, nanorods, nanocubos, nanocajas y nanoestrellas. En aplicaciones biomédicas, las nanopartículas de oro más utilizados son nanoesferas y nanorods. En la literatura, se han propuesto varios métodos para sintetizar el tamaño y la forma uniformes de las nanopartículas de oro. Recientemente, se han usado nanopartículas de oro (Au-NP) junto con láser de diodo para evaluar la actividad antibacteriana y se ha concluido en los estudios que el láser + Au-NP elimina el 80% de las bacterias en comparación con el láser o Au-NP individualmente, los cuales han mostrado una reducción del 70%.<sup>21</sup>

Roshdy NN, Kataia EM y cols. probaron nanopartículas de quitosán con láser diodo a una potencia de 2W a una longitud de onda 980nm, en forma individual y en terapias combinadas y concluyen que la terapia combinada tuvo un efecto de eliminación de *E. faecalis* de 99.4%.<sup>28</sup>

Afkhami F, Akbari S, Chiniforush N. utilizan nanopartículas de plata/100ppm con laser diodo y verde de indocianiano el cual el un fotosensibilizador ( terapia fotodinamica) para la eliminación de *E. faecalis* y concluyen que estas dos combinadas tuvieron un alto porcentaje de eliminación de éste microorganismo en el conducto radicular. En nuestro estudio la diferencia de los tratamientos fue que ellos utilizaron 810 nm y a una potencia de 200mW, por 30 segs, utilizando una punta a 1mm antes de la longitud de trabajo; en nuestro trabajo se utilizaron los mismos paramétros pero no se utilizó un fotosensibilizador. Con el gel de ChAgNPs, en la mayoría de estudios donde se utiliza el láser lo hacen en una potencia de 1W o 2W , por lo que al usar este gel a es probable que de se deba subir la potencia al láser para mejores resultados.<sup>29</sup>

En el caso del grupo de ChAuNRs aun no hay estudios que utilicen estos nanorods con la terapia de láser en el conducto radicular. Las características más atractivas del oro nanométrico son atribuibles a su fenómeno de resonancia de plasma superficial (SPR), responsable de sus propiedades ópticas relevantes. Sobre todo, las nanovarillas de oro parecen ser una excelente opción en PTT, debido a su capacidad para ejercer un efecto de hipertermia cuando se excitan con luz NIR (longitud de onda de 650-900 nm). De hecho, se ha demostrado que la radiación NIR tiene un mejor poder de penetración en comparación con las radiaciones de longitud de onda más corta.<sup>30,31</sup>

Los parámetros de irradiación, incluida la longitud de onda del láser, el modelo, la dosis y el tiempo de exposición, también son factores críticos que influyen en la eficacia del PTT y los efectos secundarios. La luz NIR se puede clasificar en la luz NIR de la primera ventana (NIR-I, 700-1000 nm) y la luz NIR de la segunda ventana

(NIR-II, 1000-1700 nm), de las cuales, la última ha despertado cada vez más atención por su mayor profundidad de penetración hasta varios centímetros y menor absorción por los tejidos. Según el Estándar Nacional Estadounidense para el uso seguro de láseres, la profundidad máxima de penetración se encuentra en el rango de 1000 a 1100 nm y la exposición máxima permisible (MPE) correspondiente para la piel es de 1 W /cm<sup>2</sup>, mientras que el MPE para láser de 808 nm no debe superar los 0,33 W / cm<sup>2</sup>.<sup>32,33</sup>

Behrens y Gutknecht, en 1993 llevaron a cabo experimentos in vitro en cortes de dentina con ajustes de potencia láser para poder llegar a una temperatura ideal para el uso del láser, incluso a temperaturas extremas con el fin de determinar que no ocurre daño térmico en tratamientos con láser; Nd: YAG pulsado o con láser de diodo . Al medir la superficie de la raíz, se obtuvo una temperatura de 38 °C después de una duración de tratamiento de 45 segundos a 15 Hz / 1,5 W. Este valor se encuentra dentro del área fisiológica. Debe tenerse en cuenta que en una situación in vivo el tejido dental se enfría de manera más eficiente por el flujo sanguíneo que rodea la superficie radicular.<sup>24</sup>

A pesar de que la intensidad del láser disminuye exponencialmente en las capas más profundas del tejido, los prismas de hidroxiapatita y los túbulos dentinarios pueden actuar como conductores de luz, por lo que a pesar de la luz láser debilitada, el efecto bactericida se mantiene. Los ajustes estándar que se aplican habitualmente con un láser de diodo son 2,5 W en el modo cortado o intermitente. En la literatura, se reporta que el umbral de seguridad para el aumento de temperatura en la superficie de la raíz está dentro del rango de 7 ° C a 10 ° C. De lo contrario, la anquilosis puede ocurrir como resultado del trauma térmico en los tejidos periodontales.<sup>31</sup>

Bermudez, C. y cols utilizan el gel de nanopartículas de oro con terapia fototérmica para eliminación bacteriana en bolsas periodontales, miden la temperatura con una cámara infrarroja FLIR, da un resultado de aumento máximo de 10° C en un período

de 2 min con láser a una longitud de onda de 830nm. Basandonos en estos autores se llevó a cabo éste trabajo modificando la metodología para este estudio.<sup>34</sup>

Los resultados del estudio de Bermudez y cols. el cual utilizaron el gel de ChAuNRs y láser en un biofilm de 24 hrs en membranas como sustrato y en este estudio se trabajó con un biofilm de 24 hrs. en conductos radiculares de órganos dentales como sustrato. Esta fue la única diferencia entre los estudios, y coincidiendo con sus resultados el cual fueron resultados positivos en cuanto a la eliminación bacteriana de *E. faecalis*.

En comparación del grupo control negativo con el grupo de ChAuNRs, teniendo en cuenta que para el control negativo se utilizó NaOCl 5.25%, el cual es el irrigante más utilizado y algunas veces clasificado como el estándar de oro en la irrigación endodóntica, el ChAuNRs no tuvo diferencia significativa en el conteo de unidades formadoras de colonias post tratamiento con el NaOCl, en el conteo si tuvo una eliminación del 100% el hipoclorito y de un 96.5% el ChAuNRs. Se puede inferir que el ChAuNRs tiene muy buenas posibilidades de ser utilizado como un coadyuvante de eliminación bacteriana en la terapia endodóntica. Este no podría aun reemplazar al hipoclorito de sodio ya que tendría que contar con todas las cualidades de un irrigante ideal que aun así el hipoclorito aun no cuenta, pero éste si destruye materia orgánica, el cual es ChAuNRs no hace, por lo que tomandolo en cuenta como un coadyuvante para disminuir el uso del hipoclorito de sodio puede ser de mucha utilidad.

## 18. CONCLUSIONES

- El gel de Nanobarras de Oro resultó ser eficaz en la eliminación de *E. faecalis*, a partir de 1 minuto de exposición junto con terapia fototérmica.
- El gel de Nanobarras de Oro comparada con el grupo control negativo no tuvo diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la eliminación bacteriana.
- El gel de Nanopartículas de Plata comparada con el NaOCl si tuvo diferencia estadísticamente significativa, demostró reducción de la carga bacteriana, más no eliminación de esta como lo hizo el hipoclorito de sodio y como el ChAuNRs.
- Se necesita más tiempo de exposición del gel de nanopartículas de plata sobre el biofilm para mayor eliminación de microorganismos.
- El gel de ChAuNRs es una opción como coadyuvante para la terapia endodóntica.

## 19. PERSPECTIVAS

- Realizar más pruebas sobre el gel de Nanopartículas de plata con la terapia fototérmica para llegar a la eliminación bacteriana.
- Evaluar el gel de nanobarras de oro sobre un modelo animal o en pruebas clínicas.

## 20. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Berutti. Manual of Endodontics. 2017. Ed.1. 832p.
2. Filippo GD, Sidhu SK, Chong BS. The role of biofilms in endodontic treatment failure. ENDO (Lond Engl) 2014;8(2):87–103
3. Rao S, Ballal NV.2018. NANOPARTICULATE DISINFECTION IN ENDODONTICS. [International Journal of Clinical Dentistry](#) 11(3):161-171
4. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic Effects of NaOCl on Vital Tissue. 1985 :4.
5. Lugo De Langhe CD, Rocha MT, Finten SB. Update on irrigants and new irrigation techniques used for the removal of the smear layer or smear layer Rev Fac Odontol. 2013 Jun 18;6(2):62.
6. Marion JJC, Manhães FC, Bajo H, Duque TM. Efficiency of different concentrations of sodium hypochlorite during endodontic treatment. Literature review. Dental Press Endod. 2012 Oct-Dec;2(4):32-7.
7. Hargreaves KM, Cohen S. Cohen vías de la pulpa. Barcelona; España: Elsevier; 2011.1.
8. Siqueira JF Jr, Batista MMD, Fraga RC, Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. J Endod. 1998;24(6):414-6.
9. Radcliffe CEL, Potouridou R, Qureshi N, Hababbeh A, Qualtrough H, Worthington DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. Int Endod J. 2004;37(7):438-46
10. Jain H, Mulay S, Mullany P. Persistence of endodontic infection and *Enterococcus faecalis*: Role of horizontal gene transfer. Gene Reports. 2016 Dec;5:112–6.
11. Stuart C, Schwartz S, Beeson T, Owatz C. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. Journal of Endodontics. 2006 Feb;32(2):93–8.

12. Haapasalo M, Shen Y. Current therapeutic options for endodontic biofilms: Current therapeutic options for endodontic biofilms. *Endod Topics*. 2010;22(1):79–98.
13. Fenton MJ, Golenbock DT, Biol JL, Weis WI, Drickamer K, Hendrickson WA, et al. MICROBES, IMMUNITY, AND DISEASE. 1999;284:6.
14. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and Apical Periodontitis: Study of Prevalence and Association with Clinical and Histopathologic Findings. *Journal of Endodontics*. 2010 Aug;36(8):1277–88.
15. Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X. Biofilm Formation Capability of *Enterococcus faecalis* Cells in Starvation Phase and Its Susceptibility to Sodium Hypochlorite. *Journal of Endodontics*. 2010 Apr;36(4):630–5.
16. Shrestha A, Kishen A. Antibacterial Nanoparticles in Endodontics: A Review. *Journal of Endodontics*. 2016 Oct;42(10):1417–26.
17. Kandaswamy E, Nagendrababu V, Deivanayagam K. Antimicrobial effect of nanoparticles in endodontics. In: *Nanobiomaterials in Dentistry* [Internet]. Elsevier; 2016 [cited 2019 Nov 12]. p. 161–86. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323428675000151>
18. Wu D, Fan W, Kishen A, Gutmann JL, Fan B. Evaluation of the Antibacterial Efficacy of Silver Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* Biofilm. *Journal of Endodontics*. 2014 Feb;40(2):285–90.
19. de Almeida J, Cechella B, Bernardi A, de Lima Pimenta A, Felipe W. Effectiveness of nanoparticles solutions and conventional endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Indian J Dent Res*. 2018;29(3):347.
20. Samiei M, Farjami A, Dizaj SM, Lotfipour F. Nanoparticles for antimicrobial purposes in Endodontics: A systematic review of in vitro studies. *Materials Science and Engineering: C*. 2016 Jan;58:1269–78.
21. Farzaneh B, Azadnia S, Fekrazad R. hydroxide and conventional calcium hydroxide using a fluorescence. *Dental Research Journal*. 2018;15(6):7.
22. Cuculino L, Gutmann JL. Prospective nanotechnology applications in endodontics: a brief overview. *ENDO EPT* 2019;13(3):255–263
23. Eskiizmir G. Chapter 17 - Nanomaterials: promising structures for the management of oral cancer. :34.

24. Katalinić I, Budimir A, Bošnjak Z, Jakovljević S, Anić I. The photo-activated and photo-thermal effect of the 445/970 nm diode laser on the mixed biofilm inside root canals of human teeth in vitro: A pilot study. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. junio de 2019;26:277-83.
25. Stabholz A, Sahar-Helft S, Moshonov J. Lasers in endodontics. *Dental Clinics of North America*. octubre de 2004;48(4):809-32.
26. Bansode DrPV, D.Pathak DrS, Wavdhane DrM, Khedgikar DrS, Gite DrS. Laser In Endodontics-A Review Article. *IOSR JDMS*. mayo de 2017;16(04):18-24.
27. Bordea IR, Hanna R, Chiniforush N, Grădinaru E, Câmpian RS, Sîrbu A, et al. Evaluation of the outcome of various laser therapy applications in root canal disinfection: A systematic review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. marzo de 2020;29:101611.
28. Briceño Castellanos JF, Gaviria Beitia DA, Carranza Rodríguez YA. Láser en odontología: fundamentos físicos y biológicos / Laser in Dentistry: Physical and Biological Foundations. *Univ Odontol* [Internet]. 2017 Jan 6 [cited 2022 Aug 6];35(75). Available from: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/revUnivOdontologica/article/view/18125>
29. Dunia Alhadi, Farah M. Jaber, Manaf Taher Agha, Musab Hamed. The Effect of Diode Laser Irradiation on Root Canal Dentin. *Journal of International Dental and Medical Research*. 2018; 12(1):49-53
30. Roshdy NN, Kataia EM, Helmy NA. Assessment of antibacterial activity of 2.5% NaOCl, chitosan nano-particles against *Enterococcus faecalis* contaminating root canals with and without diode laser irradiation: an *in vitro* study. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2 de enero de 2019;77(1):39-43.
31. Afkhami F, Akbari S, Chiniforush N. *Enterococcus faecalis* Elimination in Root Canals Using Silver Nanoparticles, Photodynamic Therapy, Diode Laser, or Laser-activated Nanoparticles: An In Vitro Study. *Journal of Endodontics*. febrero de 2017;43(2):279-82.
32. D'Ercole S, Di Fermo P, Di Giulio M, Di Lodovico S, Di Campli E, Scarano A, et al. Near-infrared NIR irradiation and sodium hypochlorite: An efficacious association to counteract the *Enterococcus faecalis* biofilm in endodontic

- infections. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. septiembre de 2020;210:111989.
33. Chen Y, Gao Y, Chen Y, Liu L, Mo A, Peng Q. Nanomaterials-based photothermal therapy and its potentials in antibacterial treatment. *Journal of Controlled Release*. diciembre de 2020;328:251-62.
34. Monem AS, Sayed FA, Rageh MM, Mohamed N. Cytotoxicity and genotoxicity of gold nanorods assisted photothermal therapy against Ehrlich carcinoma in-vivo. *Life Sciences*. septiembre de 2020;257:118108.
35. Puleio R, Licciardi M, Varvarà P, Scialabba C, Cassata G, Cicero L, et al. Effect of actively targeted copolymer coating on solid tumors eradication by gold nanorods-induced hyperthermia. *International Journal of Pharmaceutics*. septiembre de 2020;587:119641.
36. Bermúdez-Jiménez C, Niño-Martínez N, Patiño-Marín N, Martínez-Gutiérrez F, Ruiz F, Bach H, et al. Effective control of biofilms by photothermal therapy using a gold nanorod hydrogel. 2019.