



Facultad de Ciencias de la Salud

Posgrado de Endodoncia

Tema:

**Análisis *ex vivo* de la efectividad antimicrobiana del láser de diodo e hipoclorito de sodio
sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29219.**

Artículo Científico para la obtención del Título de Especialista en Odontopediatría

Postulante:

Germania Patricia Torres Veintimilla

Tutor:

Ing. Boris Villacrés

Quito, junio 2025

Resumen

Objetivo: Evaluar la eficacia del láser de diodo en la eliminación de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en el sistema de conductos radiculares mediante experimentación ex vivo.

Materiales y Métodos: Se seleccionaron 90 premolares unirradiculares, los cuales fueron preparados con limas del sistema rotatorio Endogal. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 14 días en condiciones anaeróbicas, posteriormente se distribuyeron aleatoriamente en seis grupos, se usó NaClO al 5,25%; G1: irrigación con NaClO; G2: irrigación con NaClO e irradiación con el láser de diodo L1 (660 nm, 100 mW, 90 s); G3: irrigación con NaClO e irradiación con el láser de diodo L2 (808 nm, 100 mW, 90 s); G4: irradiación láser de diodo (660 nm, 100 mW, 90 s); G5: irradiación láser de diodo L2 (808 nm, 100 mW, 90 s) y como grupo de control se utilizó cloruro de sodio (NaCl) al 0,9 % (total: 90 dientes). Finalmente, se tomaron las muestras de los conductos radiculares utilizando conos de papel estériles. La eficacia de cada protocolo se evaluó mediante la técnica de siembra masiva sobre agar mueller hinton. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 24 horas, tras lo cual se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/ml). **Resultados:** La combinación de NaClO con terapia fotodinámica (G2) redujo significativamente la cantidad de colonias bacterianas en comparación con el uso exclusivo de NaClO (G1) ($p 0.01 < 0,05$; $Z: 2.89$). De manera similar, la combinación de NaClO con láser L2 (G3) fue más eficaz que la aplicación individual de terapia fotodinámica (G4). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se utilizó únicamente el láser (G4 y G5) ($p 0.00 < 0.05$) ($Z-3.45$); L2 ($p 0.00 < 0.05$) $Z (-5.35)$. Además, el NaClO por sí solo (G1) mostró una mayor reducción bacteriana en comparación con G4 ($p 0.04 < 0.05$; $Z: -2.50$) y Grupo 5 ($p 0.00 < 0.05$; $Z: -4.40$). **Conclusión:** La combinación de hipoclorito de sodio al 5,25 % con terapia fotodinámica demostró ser el protocolo más eficaz para la desinfección de

los conductos radiculares, logrando una mayor inhibición de unidades formadoras de colonias de *Enterococcus faecalis*.

Palabras clave: Desinfección, *Enterococcus faecalis*, láser, terapia fotodinámica TFD, hipoclorito de sodio.

Declaración De Aceptación De Norma Ética Y Derechos

El presente documento se ciñe a las normas éticas y reglamentarias de la Universidad Hemisferios. Así, declaro que lo contenido en este ha sido redactado con entera sujeción al respeto de los derechos de autor, citando adecuadamente las fuentes. Por tal motivo, autorizo a la Biblioteca a que haga pública su disponibilidad para lectura dentro de la institución, a la vez que autorizo el uso comercial de mi obra a la Universidad Hemisferios, siempre y cuando se me reconozca el cuarenta por ciento (40%) de los beneficios económicos resultantes de esta explotación.

Además, me comprometo a hacer constar, por todos los medios de publicación, difusión y distribución, que mi obra fue producida en el ámbito académico de la Universidad Hemisferios.

De comprobarse que no cumplí con las estipulaciones éticas, incurriendo en caso de plagio, me someto a las determinaciones que la propia Universidad plantee.

Germania Patricia Torres Veintimilla

1723446181

Dedicatoria

A mis padres, por su dedicación incansable y por enseñarme los valores que me guían todos los días. A mis hermanos, por su compañía incondicional y por hacerme sentir que nunca estoy sola. A mis amigos, por compartir mis alegrías y desafíos.

A mis docentes, por más que sus enseñanzas. Gracias por creer en mí, por compartir su saber con generosidad y por acompañarme con paciencia, exigencia y afecto. Cada palabra de aliento, cada corrección y cada lección dejaron huella en mí, más allá de lo académico.

A mi tutor por toda la paciencia, orientación y compromiso durante esta investigación.

Índice

Contenido

Resumen.....	2
Declaración De Aceptación De Norma Ética Y Derechos	4
Índice.....	6
Índice de Tablas	8
Índice de Figuras.....	9
Abstract.....	11
Introducción	12
Metodología	17
Diseño experimental	17
Preparación de las muestras	19
Caracterización de la cepa microbiana <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	20
Inoculación de órganos dentales con <i>E. faecalis</i> ATCC 29212.....	20
Protocolos de desinfección de los conductos radiculares contaminados con <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	21
Tratamiento de conductos radiculares contaminados experimentalmente con <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	21
Análisis del efecto antimicrobiano del láser de diodo DUO MMO, sobre <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	22

Hallazgos.....	23
Resultados.....	23
Discusión.....	27
Conclusiones.....	30
Referencias.....	32

Índice de Tablas

Tabla 1. Diseño experimental de la desinfección de conductos radiculares frente a biofilms de <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 (n = 15)	18
Tabla 2. Medidas estadísticas de la desviación estándar del recuento de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) posterior a los tratamientos utilizados en la desinfección de conductos radiculares inoculados con <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	23
Tabla 3. Prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la distribución normal de los protocolos de desinfección en conductos radicales contaminados experimentalmente con <i>E. faecalis</i> ATCC 29212.....	24
Tabla 4. Prueba de Kruskal-Wallis para determinar diferencias significativas en el número de colonias bacterianas por mililitro (UFC/ml) entre los grupos analizados, sobre <i>E. faecalis</i> ATCC 2921.....	24
Tabla 5. Test de Dunn ajustado por el método de Holm para comparar la eficacia antibacteriana de los tratamientos en la desinfección de conductos de la raíz dental inoculados con <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	26

Índice de Figuras

Figura 1. Comparación de la inhibición bacteriana (UFC/ml) entre los diferentes tratamientos para la desinfección ex vivo de conductos de la raíz dental, frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.....	27
--	----

ANÁLISIS *EX VIVO* DE LA EFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL LÁSER DE DIODO E HIPOCLORITO DE SODIO SOBRE ENTEROCOCCUS *FAECALIS* ATCC 29219.

Germania Patricia Torres Veintimilla

torresgermania23@gmail.com

Resumen

Objetivo: Evaluar la eficacia del láser de diodo en la eliminación de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en el sistema de conductos radiculares mediante experimentación *ex vivo*.

Materiales y Métodos: Se seleccionaron 90 premolares unirradiculares, los cuales fueron preparados con limas del sistema rotatorio Endogal. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 14 días en condiciones anaeróbicas, posteriormente se distribuyeron aleatoriamente en seis grupos, se usó NaClO al 5,25%; G1: irrigación con NaClO; G2: irrigación con NaClO e irradiación con el láser de diodo L1 (660 nm, 100 mW, 90 s); G3: irrigación con NaClO e irradiación con el láser de diodo L2 (808 nm, 100 mW, 90 s); G4: irradiación láser de diodo (660 nm, 100 mW, 90 s); G5: irradiación láser de diodo L2 (808 nm, 100 mW, 90 s) y como grupo de control se utilizó cloruro de sodio (NaCl) al 0,9 % (total: 90 dientes). Finalmente, se tomaron las muestras de los conductos radiculares utilizando conos de papel estériles. La eficacia de cada protocolo se evaluó mediante la técnica de siembra masiva sobre agar Mueller-Hinton. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 24 horas, tras lo cual se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/ml). **Resultados:** La combinación de NaClO con terapia fotodinámica (G2) redujo significativamente la cantidad de colonias bacterianas en comparación con el uso exclusivo de NaClO (G1) ($p 0.01 < 0,05$; $Z: 2.89$). De manera similar, la combinación

de NaClO con láser L2 (G3) fue más eficaz que la aplicación individual de terapia fotodinámica (G4). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se utilizó únicamente el láser (G4 y G5) ($p\ 0.00 < 0.05$) (Z-3.45); L2 ($p\ 0.00 < 0.05$) Z (-5.35). Además, el NaClO por sí solo (G1) mostró una mayor reducción bacteriana en comparación con G4 ($p\ 0.04 < 0.05$; Z: -2.50)) y Grupo 5 ($p\ 0.00 < 0.05$; Z: -4.40). **Conclusión:** La combinación de hipoclorito de sodio al 5,25 % con terapia fotodinámica demostró ser el protocolo más eficaz para la desinfección de los conductos radiculares, logrando una mayor inhibición de unidades formadoras de colonias de *Enterococcus faecalis*.

Palabras clave: Desinfección, *Enterococcus faecalis*, láser, terapia fotodinámica TFD, hipoclorito de sodio.

Abstract

Objective: To evaluate the efficacy of diode laser in eliminating *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 in the root canal system using ex vivo experiments. **Materials and Methods:** Ninety single-rooted premolars were selected and prepared with Endogal rotary system files. The samples were incubated at 37°C for 14 days under anaerobic conditions and then randomly distributed into six groups. 5.25% NaClO was used; G1: irrigation with NaClO; G2: irrigation with NaClO and irradiation with the L1 diode laser (660 nm, 100 mW, 90 s); G3: irrigation with NaClO and irradiation with the L2 diode laser (808 nm, 100 mW, 90 s); G4: diode laser irradiation (660 nm, 100 mW, 90 s); G5: L2 diode laser irradiation (808 nm, 100 mW, 90 s); and 0.9% sodium chloride (NaCl) was used as the control group (total: 90 teeth). Finally, root canal samples were taken using sterile paper cones. The efficacy of each protocol was evaluated using the mass plating technique on Mueller-Hinton agar. Samples were incubated at 37°C for 24

hours, after which colony-forming units (CFU/ml) were counted. **Results:** The combination of NaClO with photodynamic therapy (G2) significantly reduced the number of bacterial colonies compared to NaClO alone (G1) ($p < 0.05$; $Z: 2.89$). Similarly, the combination of NaClO with laser L2 (G3) was more effective than photodynamic therapy alone (G4). No statistically significant differences were found when laser alone was used (G4 and G5) ($p < 0.05$; $Z = 3.45$); L2 ($p < 0.05$; $Z = 5.35$). Furthermore, NaClO alone (G1) showed greater bacterial reduction compared to G4 ($p < 0.05$; $Z = 2.50$) and Group 5 ($p < 0.05$; $Z = 4.40$). **Conclusion:** The combination of 5.25% sodium hypochlorite with photodynamic therapy proved to be the most effective protocol for root canal disinfection, achieving greater inhibition of *Enterococcus faecalis* colony-forming units.

Keywords: Disinfection, *Enterococcus faecalis*, laser, photodynamic therapy PDT, sodium hypochlorite.

Introducción

La desinfección del sistema de conductos radiculares tiene como objetivo la eliminación de los microorganismos que forman una biopelícula bacteriana adherida a las paredes del conducto radicular y restos de tejido pulpar. Este procedimiento favorece a la reparación de los tejidos periapicales (Borges et al., 2017). El control microbiológico durante el tratamiento endodóntico es esencial y se logra mediante una preparación químico-mecánica que combina la acción de los instrumentos de conformación con el uso de soluciones irrigantes y la obturación, el hipoclorito de sodio (NaClO) desempeña un papel crucial en el desbridamiento de la biopelícula y en la reducción significativa de la carga bacteriana (Tanner et al., 2024).

La acción del hipoclorito de sodio puede disminuir por la anatomía compleja de los conductos (Ricucci & Siqueira, 2008). La dificultad para erradicar completamente las bacterias abre perspectivas para el uso de enfoques alternativos complementarios como la terapia fotodinámica (TFD) (Eldeniz et al., 2007). La preparación quimicomecánica juega un papel fundamental en la eliminación o al menos, en la reducción del número de bacterias que penetran y colonizan los túbulos dentinarios (Meire et al., 2012). Varias soluciones se recomiendan para la desinfección de los conductos radiculares (Eldeniz et al., 2007). Entre ellas, el hipoclorito de sodio (NaClO) es un potente agente antimicrobiano, considerado el irrigante más utilizado por su efecto proteolítico, con capacidad de disolver tejidos orgánicos, tejido necrótico y parte del barrillo dentinario. Así pues, se considera el irrigante con mayor efectividad para la eliminación de microorganismos oportunistas como *Enterococcus faecalis* (Romeo et al., 2015).

El *Enterococcus faecalis* es un coco Gram positivo y anaerobio facultativo que crece dispuesto en pares o formando cadenas cortas, inmóvil y no esporulado, con facilidad de soportar condiciones extremas; por ejemplo, suele hallarse en lesiones periapicales (Arneiro et al., 2014). Tiene la capacidad de sobrevivir dentro de los túbulos dentinarios del sistema de conductos, sus mecanismos de resistencia, virulencia y patogenicidad están determinados por su eficacia para adherirse al colágeno de las paredes de la dentina radicular, formando una biopelícula (Eldeniz et al., 2007). El ácido lipoteicoico es uno de los principales factores de virulencia en la pared celular de *Enterococcus faecalis*, que a menudo lo liberan bacterias durante la división celular e incluso después de la muerte celular, por lo que puede permanecer dentro de los conductos radiculares durante un largo periodo de tiempo, desencadenando una inflamación crónica (Zou et al., 2021).

Un porcentaje sustancial de las paredes del conducto radicular no se ve afectado por los instrumentos rotatorios, de esta forma persiste una cantidad considerable de dentina potencialmente infectada dentro del conducto, las zonas de dentina intactas albergan bacterias que se difunden hacia los túbulos dentinarios, hasta 1150 μm (Tanner et al., 2024). A pesar de su potencial antimicrobiano, las sustancias químicas utilizadas en la irrigación sólo pueden penetrar hasta 100 μm en los túbulos dentinarios. Por otro lado, la profundidad de penetración bacteriana en los túbulos dentinarios es en promedio de 500 μm . Sobre *Enterococcus faecalis*, se conoce que se extiende a una profundidad aún mayor, penetrando 800 - 1000 μm en los túbulos dentinarios en periodos de incubación de tres semanas (Borges et al., 2017).

El láser se usa para optimizar la desinfección del sistema de conductos, con el objetivo de mejorar los protocolos convencionales de irrigación, logrando disminuir de manera significativa las poblaciones bacterianas. Es un tipo de luz no ionizante con energía altamente concentrada que, al estar en contacto con tejidos vivos genera una gran variedad de efectos relacionados con la longitud de onda, potencia de salida y tiempo de exposición (Romeo et al., 2015). El mecanismo de un láser Er: YAG (erbium-doped yttrium aluminium garnet) está basado principalmente en las ondas de choque de colapso y el flujo de fluido a alta velocidad, que son el resultado de la rápida expansión e implosión de las burbujas inducidas por el láser (Neelakantan et al., 2015). El láser de diodo se puede clasificar en dos grupos según su potencia: los de baja potencia, también llamados Low Level Laser Therapy, con un rango de longitud de onda de 632, 670 y 830 nm y una potencia de salida de 1 - 100 mW y los de alta potencia con una longitud de onda comprendida entre 810 y 980 nm, con potencias de 1 -15 W (Moritz et al., 1997).

Entre este tipo de láser, el láser de diodo, con una longitud de onda de 980 nm cercana al rango de infrarrojos del espectro electromagnético, permite un alto poder de penetración en el tejido (Tanner et al., 2024). Además, posee una alta absorción en melanina y hemoglobina y un bajo coeficiente de absorción al agua y la hidroxiapatita; permitiendo así, que su energía supere al agua intra e intercelular y produciendo un profundo efecto térmico hemostático y necrótico en tejidos con pigmentación oscura, en comparación con el láser de Erbium-Yag (Er:YAG) (Romeo et al., 2015). Actualmente, se ha sugerido el láser de diodo de infrarrojo cercano a 810 – 980 nm como una excelente alternativa para la desinfección del sistema de conductos. Posee un efecto antibacterial fototérmico, que puede eliminar las bacterias que han penetrado profundamente en los túbulos dentinarios, permitiendo una reducción bacteriana significativa (Zou et al., 2021).

El láser de diodo presenta puntas de fibras, delgadas y flexibles de diversos diámetros de 200 - 320 μm , facilitando el acceso al sistema de conductos, tejidos pulpaes y dilaceraciones de los conductos radiculares. Sin embargo, las fibras poseen un factor limitante: dado que irradian la luz en la dirección de su eje mayor, esto disminuye su eficacia a lo largo de los túbulos dentinarios (Alfredo et al., 2008). El Laser de diodo Dúo (MMO) es un dispositivo en forma de bolígrafo desarrollado para aplicaciones de láser terapia en la cavidad bucal (intra y perioral), cara y cuello. Se puede configurar en dos fases: L1, asociado con solución de azul de metileno 0,005 % emite luz a una longitud de onda de 660 nm; y L2 que emite a una longitud de onda de 808 nm, los dos tienen una potencia de salida de 100 mW que se aplica durante 90 segundos (Zamirato et al, 2021).

Una desventaja en la aplicación del láser dentro del sistema de conductos radiculares es la transformación de energía lumínica en energía calórica durante la interacción con las estructuras

dentinarias, lo que podría incrementar la temperatura en la porción externa de la raíz y estructuras adyacentes (Alfredo et al., 2008). Las variaciones térmicas, están determinadas por dos factores: la cantidad de calor generado y el tiempo que persiste en la región irradiada (Pražmo et al., 2017).

Actualmente, se usa la TFD complementariamente a las técnicas actuales de desinfección de los sistemas de conductos radiculares (Arneiro et al., 2014). Es un procedimiento que inactiva células, microorganismos o moléculas mediante reacciones químicas mediadas por luz, a través de un fotosensibilizador (Alves et al., 2011). El fotosensibilizador, como el azul de metileno, es una sustancia química que al activarse a una longitud de onda específica en una reacción química con el oxígeno molecular circundante genera oxígeno singlete (Sarda et al., 2019). Altamente reactivo e induce al daño celular a través de citotoxicidad (Arneiro et al., 2014). Por lo consiguiente el fotosensibilizador experimenta una transición desde un bajo nivel de energía a un estado de mayor energía para ejercer fototoxicidad causando la muerte celular (Pražmo et al., 2017).

La combinación de un fotosensibilizador eficaz, la longitud de onda adecuada y el oxígeno ambiental son factores claves en la terapia fotodinámica (Singh et al., 2015). El grupo fenotiazina del fotosensibilizador, por lo general son moléculas catiónicas con una estructura central compuesta por un sistema de anillos aromáticos tricíclicos planares que funcionan como cromóforo (Beer et al., 2012). Los fotosensibilizadores más utilizados son las fenotiazinas, entre los cuales encontramos el azul de toluidina (TBO) y el azul de metileno (MB). Azul de metileno (MB) es un colorante catiónico con una absorción máxima de luz alrededor de los 670 nm. Este fotosensibilizador se activa con luz roja entre 630 y 700 nm, lo que corresponde a una

profundidad de penetración de la luz de 630 nm (Benedicenti et al., 2008). La eliminación bacteriana incompleta se puede relacionar al uso de una alta densidad de potencia, que puede causar un rápido consumo de oxígeno molecular en los túbulos dentinarios poco oxigenados (Lee et al., 2004).

Una concentración entre 0,001 % y 0,01 % de MB es la ideal para evitar una inhibición incompleta de las colonias formadoras de *Enterococcus faecalis* (Alves et al., 2011). Por lo tanto, este estudio evalúa la capacidad antimicrobiana del láser de diodo DUO con diferentes longitudes de onda (660 nm y 808 nm) y una potencia de salida de 100 mw e hipoclorito de sodio al 5,25 % frente al *Enterococcus faecalis*, utilizados en tratamientos endodónticos mediante experimentación *ex vivo*.

Metodología

Diseño experimental

Se realizó un estudio *ex vivo*, con un enfoque experimental, cuantitativo y descriptivo, elaborado en el Laboratorio de Microbiología General de la Universidad Hemisferios, que cuenta con las normas de bioseguridad para el cultivo, siembra y antibiograma de la cepa a ser estudiada. Se seleccionaron 90 premolares unirradiculares, ausentes de calcificaciones o reabsorciones externas e internas en la porción cervical. Los órganos dentales, extraídos por causas ortodóncicas, por el consultorio dental “Santos Basantes” y el consultorio dental Novumdent.

Los tratamientos se dividieron aleatoriamente en 6 grupos (n = 90); G1: se irrigó con 5 ml NaClO al 5,25 %, durante 5 ciclos de 20 segundos; G2: se irrigó con 5 ml NaClO 5,25%

durante 5 ciclos de 20 segundos, posteriormente se colocó 40 μ l de azul de metileno al 0,005 % como fotosensibilizador, con la fibra óptica se irradió con el láser Dúo MMO, configurado en L1 (Longitud de onda de 660 nm, con una potencia de salida de 100 mW) durante un tiempo de 90 segundos; G3: se irrigó con 5 ml NaClO 5,25 %, durante 5 ciclos de 20 segundos, posteriormente se irradió con el láser de diodo, configurado en L2 (Longitud de onda de 808 nm, con una potencia de salida de 100 mW) durante un tiempo de 90 segundos; G4: se colocó azul de metileno al 0,005 % hasta el nivel de la cavidad con una jeringa descartable, esta sustancia fue agitada con una lima K#15 por un tiempo de 2 minutos dentro del conducto radicular y se irradió con el láser de diodo configurado en L1 durante un tiempo de 90 segundos; G5: se aplicó el láser de diodo configurado en L2 durante un tiempo de 90 segundos; G6: grupo de control se irrigó con 5 ml de solución salina estéril (NaCl) al 0,9 % durante 5 ciclos de 20 segundos.

Tabla 1. Diseño experimental de la desinfección de conductos radiculares frente a biofilms de *E. faecalis* ATCC 29212 (n = 15)

Grupos	Protocolos de desinfección
Grupo 1	Hipoclorito de sodio al 5,25 %
Grupo 2	Hipoclorito de sodio al 5,25 % y L1
Grupo 3	Hipoclorito de sodio al 5,25 % y L2
Grupo 4	L1. Longitud de onda de 660 nm
Grupo 5	L2. Longitud de onda 808 nm
Grupo 6	Solución salina al 0,9 %

Nota. L1: Longitud de onda de 660 nm, con una potencia de salida de 100 mW. L2: Longitud de onda de 808 nm, con una potencia de salida de 100 mW. Fuente: investigador

El análisis estadístico de la base de datos se realizó con el software R, donde se aplicaron pruebas de normalidad para revisar cómo se distribuían los datos. Como los datos no mostraron

una distribución paramétrica, los resultados en unidades formadoras de colonias (UFC/ml) se evaluaron usando la prueba de Kruskal-Wallis, que reveló diferencias significativas.

Posteriormente, se realizó un análisis adicional utilizando la prueba de Dunn, ajustada por el método de Holm, con el objetivo de identificar el protocolo de desinfección más eficaz.

Preparación de las muestras

Los noventa premolares unirradiculares seleccionados (población) se almacenaron en solución salina al 0,9 % y conservados a una temperatura de 4 °C en refrigeración hasta su uso. Para garantizar confirmar un entorno estéril, las muestras fueron autoclavadas a una temperatura de 120 °C durante 15 minutos, a 1 atmósfera. Con el fin de confirmar la esterilidad, los órganos dentales se colocaron en caldo brain heart infusión (BHI), se incubaron durante 24 h a 37 °C en anaerobiosis; luego se sembraron masivamente 100 µl de la muestra en cajas Petri con agar plate count, y se incubaron a 37 °C durante 24 horas en anaerobiosis. Finalmente, se comprobó la ausencia de colonias bacterianas.

Para la aplicación de los diferentes tratamientos, se seccionó cada órgano dental a nivel de la unión amelocementaria, utilizando una fresa cilíndrica diamantada, estandarizando a 15 mm de longitud de trabajo. Todos los conductos radiculares se instrumentaron con la secuencia de limas Endogal. La permeabilización se realizó con la lima manual Pre K12.01 y la instrumentación rotatoria se usó según instrucciones del fabricante a 350 rpm con un torque de 4 N utilizando, A ($\varnothing = 0,15$ mm), B ($\varnothing = 0,20$ mm), D ($\varnothing = 0,25$ mm), E ($\varnothing = 0,30$ mm) como lima apical maestra. Para una correcta desinfección, cada conducto se irrigó con 1ml NaClO al 5,25 % entre cada instrumento, utilizando una jeringa desechable de 5 ml con una aguja de salida lateral.

Caracterización de la cepa microbiana *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

El microorganismo patógeno *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, se obtuvo de los laboratorios de Microbiología General de la Universidad Hemisferios, que se activó sembrándola en una caja Petri con agar nutritivo y posteriormente se incubó a 37 °C por 24 horas.

Se observó colonias bacterianas y se caracterizaron mediante tinción Gram, corroborando la característica de cocos Gram positivos. Para determinar el género, se realizó las pruebas bioquímicas: catalasa, hemólisis, NaCl 6,5 %, agar sangre, bilis esculina, determinación de la movilidad. Para determinar la especie se usó pruebas específicas como: acidificación de arabinosa (caldo rojo de fenol, arabinosa 5 g/l, pH 7.3 ± 02) y tolerancia a telurito (agar tripticasa de soya, telurito de potasio 0,04%, pH 7.3 ± 02).

Inoculación de órganos dentales con *E. faecalis* ATCC 29212

El microorganismo patógeno *E. faecalis* ATCC 29212 se activó durante todo el ensayo en caldo infusión cerebro corazón (BHI) y agar plate count. Para contaminar los órganos dentales, primeramente, se sembró *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en agar BHI en condiciones anaeróbicas y se incubó a 37 °C durante 24 h. Posteriormente, se realizó diluciones hasta obtener una concentración estándar de McFarland 0.5 (1.5×10^8 UFC/ml) en 10 ml de caldo BHI.

A continuación, se introdujeron los órganos dentarios en los tubos de ensayo y se incubaron a 37 °C en anaerobiosis, durante 14 días, para así permitir la formación de biopelículas maduras. Durante este periodo de incubación se realizaron cinco reinoculaciones en los días 1,4,7,10 y 14 para asegurar la presencia continua de bacterias vivas en los conductos. Al concluir la incubación, se realizó un lavado suave con 1 ml de solución salina estéril para remover las

bacterias no adheridas en la superficie externa de la raíz, preservando intactas las biopelículas bacterianas formadas en las paredes de los órganos dentarios.

Protocolos de desinfección de los conductos radiculares contaminados con *E. faecalis* ATCC 29212

Previo a la aplicación de los protocolos de desinfección, cada tubo de ensayo que contenía 10 ml de caldo BHI fue agitado en un vórtex durante 30 segundos. Luego, se extrajo el órgano dentario utilizando una pinza mosquito curva. A continuación, se procedió a lavar la superficie externa de la raíz con una solución salina estéril (NaCl 0,9%) utilizando una jeringa desechable de 5 ml.

Tratamiento de conductos radiculares contaminados experimentalmente con *E. faecalis* ATCC 29212

La desinfección se realizó en base al diseño experimental (Tabla 1), los parámetros configurados del láser de Diodo (MMO) fueron: L1 que emite a una longitud de onda de 660 nm y L2 que emite a una longitud de onda de 808 nm, ambos configurados a una potencia de salida 100 mW calibrados según la recomendación del fabricante. Dentro del Grupo 1 (n = 15) (, las muestras se trataron únicamente con 5 ml de NaClO al 5,25% durante 5 ciclos de 20 segundos con una aguja de salida lateral a 1mm de la longitud de trabajo.

El Grupo 2 (n = 15) primero se irrigó con 5 ml de NaClO al 5,25 % por 5 ciclos de 20 segundos. Luego, para la TFD, se utilizaron 40 µl de azul de metileno 0,005 % como fotosensibilizador, el mismo que se colocó en el conducto radicular durante 2 minutos y con la fibra óptica del láser Dúo MMO configurado en L1 se realizó movimientos en vaivén (de apical a incisal) durante 90 segundos. El Grupo 3 (n = 15) se trató con 5 ml de NaClO al 5,25 % por 5

ciclos de 20 segundos; posteriormente, se aplicó el láser de diodo Dúo MMO con la punta convencional configurado en L2 durante 90 segundos. En Grupo 4 (n = 15) se utilizaron 40 µl azul de metileno al 0,005% como agente fotosensibilizador, el mismo que se colocó por 2 minutos realizando movimientos en vaivén con la fibra óptica del láser Dúo MMO, configurado en L1 durante 90 segundos. Para el Grupo 5 (n = 15) a cada conducto se aplicó el láser DUO MMO con la punta convencional, configurado en L2 durante un tiempo de 90 segundos. El Grupo 6 (n = 15), control negativo, se irrigó con 5 ml de solución salina estéril (NaCl 0,9 %) por 5 ciclos de 20 segundos.

Análisis del efecto antimicrobiano del láser de diodo DUO MMO, sobre *E. faecalis* ATCC 29212

Después de llevar a cabo los tratamientos de desinfección, se verificó la presencia o ausencia de *E. faecalis* ATCC 29212 en cada uno de los 90 dientes, utilizando conos de papel estériles número 25/06. Para esto, se introdujo un cono en el conducto radicular, dándole dos giros en el sentido de las manecillas del reloj durante 20 segundos para recoger la muestra. Luego, se colocó la muestra en tubos de ensayo con 10 ml de caldo BHI, se agitó en un vórtex durante 30 segundos y se incubó a 37 °C durante 24 horas en condiciones anaeróbicas. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas hasta 1:100.000 y se sembraron 100 µl de cada muestra en placas de Petri con agar plate count, las cuales se incubaron a 37 °C durante 24 horas en anaerobiosis. Finalmente, se contó el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) para cuantificar el crecimiento bacteriano.

Hallazgos

Resultados

El análisis estadístico de la base de datos se realizó con el software estadístico R, aplicando pruebas de normalidad. Se estableció un nivel de significación de $\alpha = 0,05$ para las comparaciones estadísticas (ver Tabla 2).

Tabla 2. Medidas estadísticas de la desviación estándar del recuento de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) posterior a los tratamientos utilizados en la desinfección de conductos radiculares inoculados con *E. faecalis* ATCC 29212

Grupo	Min UFC/ml	1er.Qu UFC/ml	Mediana UFC/ml	Media UFC/ml	3er.Qu UFC/ml	Max. UFC/ml
G1: NaClO al 5,25 %	$2,00 \times 10^3$	$2,00 \times 10^3$	$3,00 \times 10^3$	$3,00 \times 10^3$	$4,00 \times 10^3$	$5,00 \times 10^3$
G2: NaClO al 5,25 % + L1	0,00	0,00	0,00	$5,30 \times 10^2$	$1,00 \times 10^3$	$2,00 \times 10^3$
G3: NaClO al 5,25 % + L2	0,00	$1,50 \times 10^3$	$2,00 \times 10^3$	$2,10 \times 10^3$	$3,00 \times 10^3$	$4,00 \times 10^3$
G4: L1	$2,00 \times 10^5$	$2,04 \times 10^5$	$2,06 \times 10^5$	$2,06 \times 10^5$	$2,08 \times 10^5$	$2,20 \times 10^5$
G5: L2	$4,50 \times 10^5$	$5,03 \times 10^5$	$5,08 \times 10^5$	$5,06 \times 10^5$	$5,11 \times 10^5$	$5,26 \times 10^5$

Nota. L1: Longitud de onda de 660 nm, con una potencia de salida de 100 mW. L2: Longitud de onda de 808 nm, con una potencia de salida de 100 mW. Fuente: investigador

Los resultados estadísticos fueron analizados mediante la prueba de Shapiro-Wilk, (prueba normalidad) para los grupos G1: hipoclorito de sodio al 5,25 %; G2: hipoclorito de sodio al 5,25 % y L1; G3: hipoclorito de sodio al 5,25 % y L2; G4: longitud de onda de 660 nm y G5: longitud de onda 808 nm (Tabla 3).

Tabla 3. Prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la distribución normal de los protocolos de desinfección en conductos radicales contaminados experimentalmente con *E. faecalis* ATCC 29212

Grupos	p-valor	Normalidad
G1: Hipoclorito de sodio al 5,25 %	0.01	No normal
G2: Hipoclorito de sodio al 5,25 % y L1	0.00	No normal
G3: Hipoclorito de sodio al 5,25 % y L2	0.24	Normal
G4: L1	0.03	No normal
G5: L2	0.00	No Normal

Nota. L1: Longitud de onda de 660 nm, con una potencia de salida de 100 mW. L2: Longitud de onda de 808 nm, con una potencia de salida de 100 mW. Fuente: investigador

Los análisis muestran que los grupos G1, G2, G4 y G5 presentan valores ($p < 0.05$), lo cual indica que no siguen una distribución normal, mientras que el G3 mostró un valor ($p > 0.05$), lo que sugiere una distribución normal. No obstante, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para confirmar que existen diferencias significativas en el número de colonias entre los diferentes protocolos de desinfección de los grupos analizados (Tabla 4).

Tabla 4. Prueba de Kruskal-Wallis para determinar diferencias significativas en el número de colonias bacterianas por mililitro (UFC/ml) entre los grupos analizados, sobre *E. faecalis* ATCC 2921

Grupos	X ² calculado	X ² teórico	p –valor	Significación	H0	H1
Tratamientos	66.14	9.49	1.47e-13/0.00	0,05	No	Si

Fuente: Investigador

Para evaluar si existen diferencias significativas en el número de colonias entre los distintos protocolos de desinfección, se utilizó la prueba post hoc de Dunn con ajuste de Holm. Los resultados mostraron que el uso de hipoclorito de sodio con terapia fotodinámica (G2) redujo significativamente la cantidad de colonias bacterianas en comparación con el Grupo 1 donde sólo

se utilizó hipoclorito de sodio ($p\ 0.01 < 0,05$; $Z: 2.89$). No obstante, no se observaron diferencias significativas entre este tratamiento (G1) y la combinación de hipoclorito de sodio con L2 (G3) respecto a la disminución de las colonias bacterianas ($p\ 0.34 > 0,05$). Por otro lado, el hipoclorito de sodio (G1) mostró una reducción considerable en el número de colonias bacterianas en comparación con el grupo 4 ($p\ 0.04 < 0,05$; $Z: -2.50$) y el grupo 5 ($p\ 0.00 < 0,05$; $Z: -4.40$), en dónde se configuró el láser en L1 y L2 respectivamente y no se utilizó el desinfectante.

Por otro lado, la combinación de NaClO con terapia fotodinámica (G2), en comparación con el NaClO y L2 (G3) presentaron resultados similares en la reducción de colonias bacterianas ($p\ 0.15 > 0.05$). Por otra parte, al emplear NaClO en conjunto con láser en L1 (G2) se registró una disminución notable en la cantidad de colonias bacterianas en comparación con G4, dónde sólo se configuró el láser en L1 ($p\ 0.00 < 0.05$) $Z (-5.40)$ y lo mismo se observó con el tratamiento G5, configurado en L2 ($p\ 0.00 < 0.05$) ($Z -7.29$).

De manera similar, la comparación entre el uso combinado del NaClO y el láser configurado en L2 (G3) mostró la disminución significativa de bacterias patógenas, en contraste con los tratamientos G4 y G5, en los cuales se aplicó únicamente terapia fotodinámica ($p\ 0.00 < 0.05$) ($Z -3.45$) y L2 ($p\ 0.00 < 0.05$) ($Z -5.35$), respectivamente. Por el contrario, cuando se utilizó únicamente el láser configurado en L1 y L2, grupo 4 y grupo 5 respectivamente, a pesar de que presentaron una disminución mínima en la cantidad de colonias bacterianas, no mostraron diferencias significativas ($p\ 0.11 > 0.05$) (Tabla 4).

Tabla 5. Test de Dunn ajustado por el método de Holm para comparar la eficacia antibacteriana de los tratamientos en la desinfección de conductos de la raíz dental inoculados con *E. faecalis* ATCC 29212

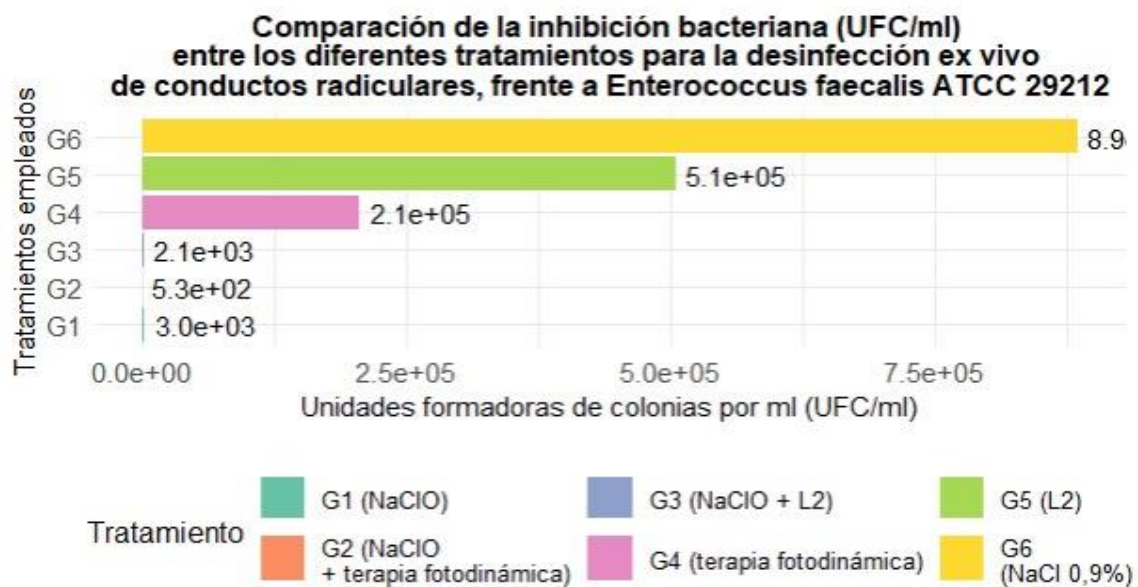
Comparación de protocolos	p valor	Nivel de significancia	Z
NaClO 5,25 % (G1) NaClO + L1 (G2)	0.01	0,05	2.89
NaClO 5,25 % (G1) vs NaClO 5,25 % + L2(G3)	0.34	0,05	0.94
NaClO 5,25 % (G1) +L1 (G4)	0.04	0,05	-2.50
NaClO 5,25 % (G1) +L2 (G5)	0.00	0,05	-4.40
NaClO 5,25 % + L1 (G2) NaClO 5,25 % + L2 (G3)	0.15	0,05	-1.94
NaClO 5,25 % + L1 (G2) L1 (G4)	0.00	0,05	-5.40
NaClO 5,25 % y L1L2	0.00	0,05	-7.29
NaClO 5,25 % L2 (G3) L1 (41)	0.00	0,05	-3.45
NaClO 5,25 % + L2 (G3) L2 (G5)	0.00	0,05	-5.35
L1 (G4) y L2 (G5)	0.11	0,05	-1.89

Nota. L1: Longitud de onda de 660 nm, con una potencia de salida de 100 mW. L2: Longitud de onda de 808 nm,

con una potencia de salida de 100 mW. Fuente: investigador

Todos los protocolos de desinfección fueron significativamente más efectivos, que el grupo control, el cual presento un mayor número de colonias bacterianas por mililitro como se esperaba.

Figura 1. Comparación de la inhibición bacteriana (UFC/ml) entre los diferentes tratamientos para la desinfección ex vivo de conductos de la raíz dental, frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212



Discusión

Varios estudios han demostrado que el protocolo de desinfección del sistema de conductos tiene como objetivo la eliminación o reducción de microorganismos en el conducto principal, lo que facilita la reparación de los tejidos periapicales (Alves et al., 2011). En el estudio de Beltes, se evaluó la eficacia antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* mediante la aplicación de terapia fotodinámica utilizando verde de indocianina. Los resultados indicaron que la combinación de hipoclorito de sodio al 2,5 % y terapia fotodinámica logró una reducción significativamente mayor de las unidades formadoras de colonias, en comparación con los grupos tratados con hipoclorito de sodio al 2,5 % y TFD (Beltes et al., 2017), estos hallazgos son similares a nuestro estudio, ya que la combinación del hipoclorito de sodio al 5,25% y terapia fotodinámica alcanzó la mayor reducción de colonias bacterianas. A pesar de esto, la preparación

quimicomecánica con NaClO, a diferentes concentraciones no logra eliminar completamente las bacterias presentes en conductos accesorios e istmos. Aproximadamente el 40 % al 60 % de los análisis microbiológicos afirman la persistencia de periodontitis apical después del tratamiento endodóntico (Siqueira & Rôças, 2008).

En un estudio llevado a cabo por Masuda *et al*, se examinó la efectividad bactericida de la terapia fotodinámica, el NaClO al 2,5% y la clorhexidina al 2% contra *Enterococcus faecalis*. Los resultados mostraron una notable disminución de la carga bacteriana (UFC), y esta reducción fue estadísticamente significativa en todos los grupos que se evaluaron. Interesantemente, la combinación de hipoclorito de sodio al 2,5 % y TFD con el láser de diodo eliminó la totalidad de las colonias bacterianas, en comparación con terapia fotodinámica e irrigación hipoclorito de sodio al 2,5 % y clorhexidina (Sharharm et al., 2012); estos resultados coinciden con los hallazgos reportados en nuestro estudio donde se observó una eliminación similar de las colonias bacterianas.

Existen investigaciones donde emplean el láser KTP (fosfato de titanilo y potasio) y el láser de diodo de 980 nm para la reducción de microorganismos patógenos (*Enterococcus faecalis*) en los canales de las raíces dentales, demostrando la eficacia de estos. Al emplear conjuntamente la instrumentación mecánica, irrigación con NaClO al 5 % e irradiaciones con láser KTP y de diodo, mostraron una reducción considerable en la cantidad de unidades formadoras de colonias bacterianas con respecto al tratamiento con NaClO al 5%.

Sin embargo, el tratamiento con láser no demostró una disminución significativa de la carga bacteriana en contraste con el protocolo de desinfección con el NaClO al 5,25 %; este resultado es diferente a los hallazgos de nuestra investigación, donde no se encontraron

diferencias relevantes al comparar la combinación de NaClO al 5,25 % con el láser de diodo configurado en L2, frente al uso exclusivo de NaClO al 5,25 %.

No obstante, al igual que en el estudio citado, nuestra investigación también mostró una reducción mínima en la cantidad de colonias bacterianas al aplicar el láser de diodo configurado en L2 en comparación con el NaClO al 5.25 %. (Romeo et al., 2015). En el experimento realizado por Borges y sus colaboradores, se evaluó el efecto antibacteriano del láser de diodo con longitudes de onda de 808 nm y 97nm en la descontaminación de la dentina radicular infectada. Los resultados indicaron que el tratamiento con NaClO al 2,5 % fue el que mostró una diferencia significativa al disminuir la proliferación de patógenos, alcanzando resultados similares a los obtenidos con los grupos tratados con NaClO al 2,5 % combinado con el láser de diodo a longitudes de onda de 808 nm y 970 nm respectivamente. No obstante, nuestros resultados difieren en los reportados en dicho estudio, ya que no se observó diferencias estadísticas entre el uso de NaClO al 5.25 % y el láser de diodo a una longitud de onda de 808 nm en relación con el protocolo que mostró la mayor erradicación de microorganismos patógenos. Por el contrario, al utilizar el láser de diodo, seguida respectivamente de la irrigación convencional con NaClO al 2,5 %, no evidenció una mejora considerable en la disminución de la carga bacteriana. Estos resultados difieren de los obtenidos en nuestra investigación, pues esta discrepancia podría atribuirse a la diferencia en la longitud de onda configurada en el láser, potencia de salida del láser de diodo, cepa bacteriana utilizada y los protocolos aplicados (Borges et al., 2017).

Moritz et al, analizaron la efectividad antimicrobiana del láser de diodo contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se evidencio la disminución significativa del Enterococcus

faecalis tras la segunda aplicación de un láser de diodo de 808 nm y una potencia de salida de 2 W, se evidenció la erradicación completa de las bacterias patógenas presentes después de la quinta irradiación. Los resultados obtenidos en nuestra investigación contrastan con estos hallazgos, lo cual puede atribuirse a las diferencias en la cantidad de aplicaciones del láser, la cepa bacteriana utilizada y el protocolo seguido. En nuestro estudio, se realizó una única aplicación del láser de diodo a una longitud de 808 nm y una potencia de salida de 100 mW, lo que podría explicar las diferencias en los resultados (Moritz et al., 1997).

Conclusiones

Basándonos en los resultados obtenidos, se pudo confirmar que todos los protocolos de desinfección mostraron actividad antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Aunque no se encontraron diferencias significativas al aplicar el láser configurado en L1 y L2, se notó que la combinación de hipoclorito de sodio al 5,25 % con terapia fotodinámica logró una mayor reducción en el número de unidades formadoras de colonias por ml, en comparación con el uso individual de hipoclorito de sodio o del láser. Por lo tanto, se sugiere utilizar hipoclorito de sodio al 5,25 % junto con terapia fotodinámica a una longitud de onda de 660 nm, en lugar de optar solo por hipoclorito de sodio o la combinación de hipoclorito con el láser de diodo configurado en L2 a 808 nm.

No se observaron diferencias significativas en la reducción de unidades formadoras de colonias al usar el láser de diodo en L2 con hipoclorito de sodio al 5,25 %, en comparación con el uso exclusivo de hipoclorito de sodio. Además, el láser de diodo no logró reducir de manera significativa el número de unidades formadoras de colonias en comparación con el hipoclorito de sodio al 5,25 %.

A lo largo de todas las repeticiones realizadas, ningún protocolo de desinfección consiguió eliminar de manera total las unidades formadoras de colonias. Sin embargo, el uso de hipoclorito de sodio sigue siendo altamente recomendable como parte del protocolo de desinfección, ya que demuestra una significativa reducción de las unidades formadoras de colonias. Se recomienda realizar más estudios acerca del láser de diodo y terapia fotodinámica para determinar su eficacia antibacteriana contra microorganismo *Enterococcus faecalis*.

No obstante, es importante destacar que los conductos laterales y las ramificaciones apicales predisponen al fracaso del tratamiento endodóntico, cuando tienen la capacidad de alojar cantidades significativas de bacterias, promoviendo una comunicación directa con los tejidos periapicales. El estudio de Ricuccu y Siquiera sugiere la implementación de estrategias terapéuticas específicas, que permitan alcanzar y desinfectar eficazmente estas zonas anatómicamente complejas del sistema de conductos apicales (Ricucci & Siqueira, 2010).

Varias investigaciones han demostrado que la preparación quimicomecánica con NaClO, a diferentes concentraciones no logra eliminar completamente las bacterias presentes en conductos accesorios e istmos. Aproximadamente el 40% al 60% de los análisis microbiológicos afirman que una de las causas del fracaso en el tratamiento endodóntico es la presencia de colonias bacterianas (Siqueira & Rôças, 2008).

Referencias

- Alfredo, E., Marchesan, M. A., Sousa-Neto, M. D., Brugnera-Júnior, A., & Silva-Sousa, Y. T. C. (2008). Temperature variation at the external root surface during 980-nm diode laser irradiation in the root canal. *Journal of Dentistry*, *36*(7), 529–534.
<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2008.03.009>
- Alves, F. R. F., Almeida, B. M., Neves, M. A. S., Moreno, J. O., Rôças, I. N., & Siqueira, J. F. (2011). Disinfecting oval-shaped root canals: Effectiveness of different supplementary approaches. *Journal of Endodontics*, *37*(4), 496–501.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.12.008>
- Arneiro, R. A. S., Nakano, R. D., Antunes, L. A. A., Ferreira, G. B., Fontes, K. B. F. C., & Antunes, L. S. (2014). Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy for root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Journal of Oral Science*, *56*(4), 277–285.
<https://doi.org/10.2334/josnusd.56.277>
- Beer, F., Buchmair, A., Wernisch, J., Georgopoulos, A., & Moritz, A. (2012). Comparison of two diode lasers on bactericidity in root canals-an in vitro study. *Lasers in Medical Science*, *27*(2), 361–364. <https://doi.org/10.1007/s10103-011-0884-3>
- Benedicenti, S., Cassanelli, C., Signore, A., Ravera, G., & Angiero, F. (2008). Decontamination of root canals with the gallium-aluminum-arsenide laser: An in vitro study. *Photomedicine and Laser Surgery*, *26*(4), 367–370.
<https://doi.org/10.1089/pho.2008.2158>

- Borges, C. C., Estrela, C., López, F. C., Palma-Dibb, R. G., Pecora, J. D., De Araújo Estrela, C. R., & Sousa-Neto, M. D. de. (2017). Effect of different diode laser wavelengths on root dentin decontamination infected with *Enterococcus faecalis*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *176*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.09.009>
- Eldeniz, A. U., Ozer, F., Hadimli, H. H., & Erganis, O. (2007). Bactericidal efficacy of Er,Cr:YSGG laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with NaClO irrigation: An ex vivo pilot study. *International Endodontic Journal*, *40*(2), 112–119. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2006.01190.x>
- Lee, M. T., Bird, P. S., & Walsh, L. J. (2004). Photo-activated disinfection of the root canal: A new role for lasers in endodontics. *Australian Endodontic Journal*, *30*(3), 93–98. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2004.tb00417.x>
- Meire, M. A., Coenye, T., Nelis, H. J., & De Moor, R. J. G. (2012). Evaluation of Nd: YAG and Er: YAG irradiation, antibacterial photodynamic therapy, and sodium hypochlorite treatment on *Enterococcus faecalis* biofilms. *International Endodontic Journal*, *45*(5), 482–491. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.02000.x>
- Moritz, A., Gutknecht, N., Schoop, U., Goharkhay, K., Doertbudak, O., & Sperr, W. (1997). Irradiation of Infected Root Canals with a Diode Laser In Vivo: Results of Microbiological Examinations. In *Lasers Surg. Med* (Vol. 21).
- Neelakantan, P., Cheng, C. Q., Mohanraj, R., Sriraman, P., Subbarao, C., & Sharma, S. (2015). Antibiofilm activity of three irrigation protocols activated by ultrasonic, diode laser or Er:

- YAG laser in vitro. *International Endodontic Journal*, 48(6), 602–610.
<https://doi.org/10.1111/iej.12354>
- Pražmo, E. J., Godlewska, R. A., & Mielczarek, A. B. (2017). Effectiveness of repeated photodynamic therapy in the elimination of intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm: an in vitro study. *Lasers in Medical Science*, 32(3), 655–661.
<https://doi.org/10.1007/s10103-017-2164-3>
- Ricucci, D., & Siqueira, J. F. (2008). Anatomic and Microbiologic Challenges to Achieving Success with Endodontic Treatment: A Case Report. *Journal of Endodontics*, 34(10), 1249–1254. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.07.002>
- Romeo, U., Palaia, G., Nardo, A., Tenore, G., Telesca, V., Kornblit, R., Del Vecchio, A., Frioni, A., Valenti, P., & Berlutti, F. (2015). Effectiveness of KTP laser versus 980nm diode laser to kill *Enterococcus faecalis* in biofilms developed in experimentally infected root canals. *Australian Endodontic Journal*, 41(1), 17–23. <https://doi.org/10.1111/aej.12057>
- Sarda, R. A., Shetty, R. M., Tamrakar, A., & Shetty, S. Y. (2019). Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy, diode laser, and sodium hypochlorite and their combinations on endodontic pathogens. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 28, 265–272.
<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.09.009>
- Singh, S., Nagpal, R., Manuja, N., & Tyagi, S. P. (2015). Photodynamic therapy: An adjunct to conventional root canal disinfection strategies. In *Australian Endodontic Journal* (Vol. 41, Issue 2, pp. 54–71). <https://doi.org/10.1111/aej.12088>

Tanner, S., Thibault, A., Leprince, J. G., & Bouillaguet, S. (2024). Photothermal Effect of 970 nm Diode Laser Irradiation on *Enterococcus faecalis* Biofilms in Single-Rooted Teeth *Ex Vivo*. *Dentistry Journal*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/dj12100308>

Zou, Z., Bhandari, J., Xiao, B., Liang, X., Zhang, Y., & Yan, G. (2021). Effect of using diode laser on *Enterococcus faecalis* and its lipoteichoic acid (LTA) in chronic apical periodontitis. *Lasers in Medical Science*, 36(5), 1059–1066. <https://doi.org/10.1007/s10103-020-03146-4>