

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE ESTOMATOLOGÍA



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

Eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro

Área de Investigación:

Medicina Oral – Materiales Dentales

Autora:

Velásquez Rumay, Diana Cecilia

Jurado Evaluador:

Presidente: Ulloa Cueva, Teresa Verónica

Secretario: Portocarrero Reyes, Alfredo Vocal:

Ruiz Cabrera, Krist Paola

Asesor:

Aldave Quezada, Gabriela Katherine

CÓDIGO ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-391X>

Trujillo – Perú 2024

Fecha de sustentación: 14/06/2024

TESIS Br DIANA VELASQUEZ RUMAY

INFORME DE ORIGINALIDAD

| | | | |
|---------------------|---------------------|---------------|-------------------------|
| 8% | 8% | 1% | % |
| INDICE DE SIMILITUD | FUENTES DE INTERNET | PUBLICACIONES | TRABAJOS DEL ESTUDIANTE |

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet | 3% |
| 2 | repositorio.uleam.edu.ec Fuente de Internet | 1% |
| 3 | scielo.sld.cu Fuente de Internet | 1% |
| 4 | repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet | 1% |
| 5 | revistas.upch.edu.pe Fuente de Internet | 1% |
| 6 | tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet | 1% |
| 7 | www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet | 1% |
| 8 | hdl.handle.net Fuente de Internet | 1% |


CD. Gabriela Alcivar Quispe
C.O.P. 28727

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%

Declaración de originalidad

Yo, **Gabriela Katherine Aldave Quezada**, docente del Programa de Estudio de Estomatología, de la Universidad Privada Antenor Orrego, asesor de la tesis de investigación titulada “**Eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro**”, autora **Diana Cecilia Velásquez Rumay**, dejo constancia lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 8%. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software Turnitin el viernes 07 de junio del 2024.
- He revisado con detalle dicho reporte y la tesis, y no se advierte indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las normas establecidas por la universidad.

Lugar y fecha: Trujillo, 27 de mayo del 2024.

ASESORA

Dra. Aldave Quezada, Gabriela Katherine

DNI:44545949

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-391X>

FIRMA:



CD. Gabriela Aldave Quezada
C.O.P. 28727

AUTORA

Velásquez Rumay, Diana Cecilia

DNI:72280567

FIRMA:



DEDICATORIA

A mi mamá, por ser mi mayor admiradora y sostenerme cuando no podía hacerlo sola, por confiar en mis capacidades y acompañarme en todo este camino. Mami, hiciste que todo fuera más llevadero.

A mi papá, porque desde el día uno me impulsó a continuar y que no me rindiera fácilmente, me demostraste que si uno se lo propone puede cumplir lo que se imagine. Papi, gracias por enseñarme a ser fuerte y afrontar cualquier obstáculo.

A Fátima, mi hermana y mi primera amiga; por enseñarme que tenemos que ser perseverantes, por escucharme cuando parecía que todo estaba borroso y no encontraba una salida, y por devolverme a mi realidad cuando lo necesitaba.

A Majo y Chemitita, por creer en mí de una manera única y por hacerme reír en esos momentos en los que sentía que ya no podía más. Esto también es para ustedes, recuerden que los límites se lo ponen ustedes mismos.

A mi mami Flor, por ser mi consejera en momentos difíciles, por haberme acompañado durante la carrera y por ser mi paciente estrella.

A Darío, por ser mi soporte y mi cómplice en este y otros proyectos, por confiar en mí y por ayudarme a alcanzar mis metas.

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios por ser mi guía a lo largo de mi carrera universitaria, por permitirme vivir experiencias inolvidables y por las bendiciones que nunca deja de mostrar en mi vida.

A la doctora Esther Quevedo, por sembrar en mí el gusto por la odontología, por mostrarme este amplio campo con paciencia y empatía.

A la Universidad Privada Antenor Orrego, por haberme brindado los conocimientos necesarios a lo largo de toda mi carrera, por su apoyo constante en todo este proceso y por inspirarme a continuar con este sueño.

A mi asesora, la doctora Gabriela Aldave Quezada por apoyarme desde el primer momento en que le propuse mi idea para este proyecto y por aceptar guiarme siempre con buen humor y paciencia.

RESUMEN

OBJETIVO: Comparar la eficacia adhesiva en la microfiltración de 2 marcas diferentes de adhesivos universales en restauraciones con cavidades clase I.

MATERIAL Y MÉTODO: El estudio fue de un diseño transversal, comparativo, prospectivo y experimental. Se trabajó con una muestra total de 32 dientes premolares sanos, distribuidos en 2 grupos. Para el protocolo de restauraciones se empleó la técnica de grabado selectivo de esmalte (ácido fosfórico al 37% 3M) y por cada grupo se utilizó un adhesivo diferente, para el grupo A se aplicó el adhesivo Single Bond Universal – 3M y para el grupo B se aplicó el adhesivo All Bond Universal – BISCO.

La restauración se realizó con la resina Filtek Z250 3M. las muestras se dejaron reposar en recipientes con violeta de genciana, para posteriormente ser sometidas a un proceso de termociclado, con el fin de simular el paso del tiempo en las restauraciones dentarias y finalmente ser observados en el microscopio estereoscópico, y con ayuda de un programa de software, realizar las mediciones correspondientes a la microfiltración presente en los adhesivos. Se utilizó la prueba U Mann- Whitney con un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$).

RESULTADOS: Al comparar los adhesivos, se encontró una diferencia significativa en esmalte ($p < 0.05$), pero en dentina no se encontró una diferencia significativa ($p > 0.05$).

CONCLUSIÓN: Se encontró que existe una mayor microfiltración en esmalte al utilizar el adhesivo Single Bond Universal – 3M.

PALABRAS CLAVE: Microfiltración, adhesivos, grabado

ABSTRACT

OBJECTIVE: Compare the adhesive effectiveness in microleakage of 2 different brands of universal adhesives in restorations with class I cavities.

MATERIAL AND METHOD: The study had a cross-sectional, comparative, prospective and experimental design. We worked with a total sample of 32 healthy premolar teeth, distributed into 2 groups. For the restoration protocol, the selective enamel etching technique was used (37% phosphoric acid 3M) and a different adhesive was used for each group. For group A, the Single Bond Universal – 3M adhesive was applied and for group B All Bond Universal – BISCO adhesive was applied.

The restoration was carried out with 3M Filtek Z250 resin. The samples were allowed to rest in fresheners with gentian violet, to later be subjected to a thermocycling process, in order to simulate the passage of time in the dental restorations and finally to be observed in the stereoscopic microscope, and with the help of a program software, perform measurements corresponding to the microleakage present in the adhesives. The Mann-Whitney U test was used with a significance level of 5% ($p < 0.05$). Universal – BISCO.

RESULTS: When comparing the adhesives, a significant difference was found in enamel ($p < 0.05$), but no significant difference was found in dentin ($p > 0.05$). ($p < 0.05$). Universal – BISCO.

CONCLUSION: It was found that there is greater microleakage in enamel when using the Single Bond Universal – 3M adhesive.

KEYWORDS: Microleakage, adhesives, etching.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|---|-----|
| Portada | i |
| Dedicatoria | ii |
| Agradecimiento | iii |
| Resumen | iv |
| Abstract | v |
| Índice o tabla de contenidos | vi |
| Índice de tablas y gráficos | vii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. Problema de investigación | 1 |
| 1.2. Objetivos | 2 |
| 1.3. Justificación del estudio | 2 |
| II. MARCO DE REFERENCIA | 4 |
| 2.1. Antecedente del estudio | 4 |
| 2.2. Marco teórico | 6 |
| 2.3. Marco conceptual | 11 |
| 2.4. Sistema de hipótesis | 11 |
| 2.5. Variables e indicadores | 12 |
| III. METODOLOGÍA EMPLEADA | 13 |
| 3.1. Tipo y nivel de investigación | 13 |
| 3.2. Población y muestra de estudio | 13 |
| 3.3. Diseño de investigación | 13 |
| 3.4. Técnicas e instrumentos de investigación | 15 |
| 3.5. Procesamiento y análisis de datos | 19 |
| IV. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS | 20 |
| 4.1. Análisis e interpretación de resultados | 20 |
| 4.2. Docimasia de hipótesis | 23 |
| V. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS | 24 |
| CONCLUSIONES | 27 |
| RECOMENDACIONES | 27 |

| | |
|----------------------------------|----|
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 28 |
| ANEXOS | 33 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Comparación de la eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro..... | 21 |
| Tabla 2: Microfiltración del adhesivo Single Bond Universal 3M en esmalte y dentina..... | 22 |
| Tabla 3: Microfiltración del adhesivo All Bond Universal BISCO en esmalte y dentina..... | 22 |

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Problema de Investigación

La odontología adhesiva actualmente tiene como objetivo lograr una aplicación del agente de unión de manera fácil y rápida; así como también un resultado duradero en los sustratos implicados en las restauraciones dentarias. Asimismo, los adhesivos dentales son los encargados de dar soporte y acondicionar al sustrato en donde se trabajará, para poder recibir el material restaurador que será aplicado.^{1, 2}

La microfiltración producida en la interfaz de pieza dentaria ha sido descrita por diversos autores como uno de los fracasos de las restauraciones dentales, dañando así tejido dentario sano, provocando caries recidivante o en los peores casos enfermedades pulpares. No obstante, se puede disminuir la microfiltración o evitarla, siguiendo los protocolos y utilizando los biomateriales adecuados.^{3, 4}

Los adhesivos dentales han sido clasificados a lo largo de los años en diferentes generaciones, con el fin de mejorar sus propiedades y por ende los resultados en las restauraciones dentales. En ese sentido, se crearon los adhesivos universales, que presentan una mejoría en la propiedad adhesiva y permiten una mayor durabilidad y menor microfiltración de este biomaterial en las cavidades dentarias.^{1, 2, 5}

Por tal motivo, la microfiltración presente en las restauraciones dentarias es de suma importancia; es un tema que se debe tomar en cuenta porque de esa manera se puede extender la vida de una restauración en la boca del paciente

y a su vez proteger el tejido subyacente, evitando que ingresen bacterias que puedan desencadenar problemas futuros en dichas piezas dentarias.⁶

Es así que, se formuló la siguiente pregunta: ¿Existe diferencia en la microfiltración de los adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General:

Comparar la eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro.

1.2.2 Objetivos Específicos:

- Determinar la microfiltración del adhesivo Single Bond Universal 3M en esmalte y dentina.
- Determinar la microfiltración del adhesivo All Bond Universal BISCO en esmalte y dentina.

1.3 Justificación del estudio

El propósito del presente estudio es dar a conocer los adhesivos dentales que pueden contrarrestar la microfiltración en operatoria dental, y que obtendrían resultados más satisfactorios para la salud oral del paciente. Dichos tratamientos son básicos y se realizan con mayor frecuencia en las consultas

odontológicas, por lo que es imprescindible controlar los biomateriales que usamos en tales procedimientos, para de esta manera seleccionar los que creamos convenientes, que pueden brindarnos mejores resultados y evitar problemas de microfiltración en las futuras restauraciones.

Por tanto, siendo los adhesivos dentales un material indispensable en este tratamiento y en otros en los que se requiere adherir un componente a las piezas dentarias, es necesario conocer el tipo de material que utilizaremos en nuestros pacientes, para obtener resultados satisfactorios a nivel estético y funcional. En ese sentido, es necesario ampliar los conocimientos ya presentes por medio de experimentos de especímenes in vitro que demuestren la eficacia de diferentes adhesivos frente a la microfiltración que ocurre después de una restauración dental convencional.

II. MARCO DE REFERENCIA

1.1. Antecedente del estudio

Ranjbar et al. (Irán, 2021) compararon la microfiltración del adhesivo universal con las estrategias de autograbado y grabado total para la restauración de cavidades en dientes molares in vitro. El cual se realizó en 75 molares primarios, en los que se prepararon cavidades de clase II. Dado que se utilizaron 4 marcas de adhesivos (Adper Single Bond 2, Clearfil SE Bond, G-Bond, G Premio Bond); todos con el protocolo de grabado total y en otro con autograbado. Asimismo, se utilizó un sistema de termociclado que constaba de 1500 ciclos y se evaluaron al microscopio estereoscópico. Concluyendo que el nivel más alto de microfiltración se observó en G-Bond y el más bajo en G-Premio Bond con grabado total y autograbado. ⁷

Bin-Shuwaish et al. (Arabia Saudita, 2021) Compararon la microfiltración de diferentes materiales compuestos a base de resina adheridos a la dentina. Para este estudio se prepararon cavidades de clase V en las superficies bucal y lingual de 40 premolares. En ambas preparaciones se utilizó el adhesivo Single Bond Universal, con la diferencia que en las preparaciones bucales se utilizó la técnica de “grabado y lavado” y en las linguales el protocolo de “autograbado”. Se envejecieron mediante termociclado por 1500 ciclos; Se concluyó que los dientes en los que se realizó el protocolo de autograbado del sistema adhesivo universal, la microfiltración no se vio afectada; sin embargo, aquellos que se restauraron usando el adhesivo universal con la técnica de grabado y enjuague, el sellado marginal obtuvo mejores resultados. ⁶

Pranckevičienė et al. (Lituania, 2019) Evaluaron la microfiltración dentaria utilizando el adhesivo universal de autograbado en restauraciones directas de resina compuesta de clase V bajo diferentes condiciones de humedad en la cavidad. Se utilizaron 30 molares extraídos en 3 grupos para comparar el adhesivo “Prime & Bond Active” en condiciones de humedad de la cavidad excesivamente húmedas. Todos los dientes fueron envejecidos con termociclado durante 3000 ciclos. Posteriormente se realizaron cortes y se analizaron en el microscopio. Llegaron a la conclusión que no existen diferencias significativas de microfiltración utilizando adhesivos universales en restauraciones de composite de clase V con diferentes niveles de humedad. Sin embargo, las condiciones de trabajo demasiado húmedas tienden a aumentar la formación de microfiltración. ⁸

Castro et al. (Lima, 2018) Compararon el grado de microfiltración marginal obtenido en las restauraciones de resina compuesta realizadas con la técnica grabado total y con grabado selectivo de esmalte. Para dicha investigación fueron utilizados 28 premolares, divididos en dos grupos a los cuales se les aplicó dos tipos de técnica adhesiva: Un grupo (A) con la técnica de grabado total de tres pasos con el sistema adhesivos Optibond FL (Kerr), y otro grupo (B) con la técnica de grabado selectivo del esmalte con autograbante de dos pasos con el sistema adhesivo Optibond XTR (Kerr). Terminado el proceso restaurativo, se termociclaron las piezas dentales durante 500 ciclos. Se determinó que no existen diferencias significativas entre ambas técnicas adhesivas; sin embargo, se observó una mayor cantidad de piezas dentarias sin microfiltración en el grupo que se utilizó el protocolo de grabado selectivo de esmalte. ²

1.2. Marco Teórico

La odontología restauradora tiene como objetivo rehabilitar en su mayor porcentaje la funcionalidad y estética de las estructuras que componen el aparato masticatorio. Actualmente, el desgaste que se realiza a nivel dental es manejado cautelosamente para evitar perder una estructura dentinaria importante. La reconstrucción de la pieza dentaria afectada necesita ser tratada cuidadosamente, aportándole la estabilidad que ha perdido y que le dará soporte para recibir el material que será aplicado sobre el sustrato del diente. El objetivo de la odontología adhesiva es lograr una aplicación del agente de unión de manera fácil y rápida, así como también un resultado duradero en los sustratos implicados en las restauraciones dentarias.^{9, 10}

Las estructuras que más resaltan en las restauraciones dentales son el esmalte y la dentina; sin embargo, el cemento puede verse afectado, ya que se encuentra ligado al esmalte dental a nivel apical. Este último sustrato no representa una estructura vital, pero contiene 92% en volumen de hidroxapatita, lo que lo hace ideal y biocompatible con los adhesivos dentales, creando una interacción micromecánica eficaz, que da como resultado la difusión y el entrelazamiento de los monómeros de resina en el conjunto de microporosidades dejadas por la disolución química ácida del esmalte.^{5, 11}

Los sistemas adhesivos son aquellos biomateriales que cumplen una de las funciones más importantes en el protocolo clínico de la preparación para las restauraciones dentales. El adhesivo usado por el profesional del área de odontología debe lograr cumplir con los 3 objetivos propuestos por Norling (2004) para alcanzar resultados satisfactorios en dichas restauraciones. Los cuales son

pre- servir y conservar más estructura dentaria, conseguir una retención óptima y duradera y evitar microfiltraciones. El primer objetivo viene siendo el que se consigue con mayor eficacia, debido a que, las restauraciones dentarias requieren de una preparación mecánica y química que es conformada inicialmente. No obstante, los siguientes 2 objetivos son los más propensos a causar el fracaso de las restauraciones.^{12, 13}

Diversas pruebas clínicas han demostrado que los adhesivos dentales representan una mayor tasa de éxito cuando se aplican con el protocolo de grabado selectivo en esmalte. Sin embargo, los adhesivos que se utilizan en conjunto con la técnica de autograbado presentan resultados similares. Actualmente, la técnica que utiliza el grabado ácido sigue siendo considerada un Gold Standard para conseguir la unión adhesiva de los materiales de restauración a las estructuras dentarias. Se ha demostrado que la unión química del esmalte después del grabado ácido es la base para lograr la durabilidad.^{5, 2}

Aplicar ácido grabador en el esmalte tiene ventajas notables en las restauraciones como: aumentar la energía de la superficie dentaria; ya que al eliminar la capa afectada del esmalte se elimina también aquella en donde se encuentra el biofilm orgánico de origen salival y los cristales químicamente no reactivos. El ácido grabador permite que el esmalte presente una superficie porosa, con pérdida mineral importante, en la que los túbulos dentinarios se ven ampliados por el aumento del área superficial del mismo. Por tal motivo, la estructura del esmalte se observa menos mineralizada, con mayores proporciones porosas, más rugosa y húmeda, lo que favorece la adhesión de otros materiales biocompatibles.^{4, 13, 14, 15}

Por otro lado, la dentina es un sustrato mucho más complejo que el esmalte y presenta notables diferencias en sus micropartículas; aquellas que hacen que este sea más orgánico y húmedo que el esmalte. Sumado a esto, la dentina presenta propiedades que varían dependiendo del paciente en el que se trabaje. Los factores incluyen la edad del paciente, la pieza dentaria en la que se trabaje, la profundidad de la dentina, si es dentina radicular o coronal, los hábitos del paciente, entre otros. ^{5, 10, 16}

La aplicación de ácido grabador en dentina durante 15 segundos elimina casi por completo el contenido mineral de este, lo que ocasiona el colapso de las fibras y permite que el adhesivo penetre en dicha zona. Sin embargo, al obviar el uso de ácido, el adhesivo universal puede disolver o eliminar, parcialmente el barrillo formado al realizar la preparación mecánica del diente, lo que a su vez elimina la hidroxiapatita en la interfase y aporta calcio, logrando así una mejor adhesión a largo plazo, a comparación de otros métodos. ^{10, 16, 17, 18}

Durante el proceso de adhesión, puede ocurrir un fenómeno denominado microfiltración, que consiste en el movimiento de bacterias, fluidos, moléculas, iones o aire entre la pared de la cavidad del diente y el material restaurativo. Ese espacio se genera porque los monómeros resinosos no han logrado llegar a rellenar completo a los espacios generados entre las fibras colágenas, por lo que se forma un espacio de dentina desmineralizada por debajo de la capa híbrida, que con el paso del tiempo puede generar una degradación por hidrólisis de la unión del sustrato y el material restaurador. ^{4, 15, 18, 19}

Evaluar la eficacia de un adhesivo dependerá de diversos factores, en los que están involucrados principalmente la integridad marginal de la interfaz del

material restaurador y el sustrato, y la fuerza de unión del agente adhesivo. Es decir, que no habrá microfiltración en los límites de la resina, ya que el adhesivo se ha profundizado en puntos estratégicos. A pesar de ello los espacios generados durante la interfaz pueden contribuir y lograr la penetración de fluidos y bacterias, que a corto plazo pueden generar hipersensibilidad u ocasionar daños a nivel pulpar. ^{10, 18, 20, 21}

Los avances tecnológicos en los sistemas adhesivos han permitido que estos evolucionen y puedan crear los adhesivos universales, creados a partir de la integración y el desarrollo de las generaciones adhesivas preexistentes, y se diferencian sustancialmente por la integración del monómero MDP y de silano. Asimismo, los adhesivos universales se diferencian de los anteriores sistemas por vida útil, que es significativamente larga, así como también por su composición de relleno nanómetro como el talco, óxido de aluminio, polvo de aluminio, cobre, esferas de cristal, óxido de titanio, etc.; que favorecen la resistencia adhesiva al esmalte y a la dentina y que disminuye la contracción por polimeriza. ^{4, 11, 13, 17}

Una característica que sin duda alguna marca la diferencia entre los adhesivos de generaciones anteriores y los adhesivos universales, es que los primeros requieren de un grabado previo, que puede implicar dos o tres pasos. No obstante, debido a que las fibras colágenas son sometidas a una desmineralización, al secar la dentina previamente grabada, colapsa y origina microfiltraciones que pueden ocasionar el fracaso de la adhesión del material y el sustrato. ^{14, 17, 19, 22}

Por tal motivo, se crearon los adhesivos universales, diseñados para usarse en diversos sustratos que comprenden desde las estructuras dentarias hasta materiales biocompatibles como cerámica, vitrocerámica, aleaciones metálicas, y que no necesariamente requieren una preparación previa. Lo que le otorga al odontólogo la opción a elegir, si desea realizar un protocolo previo a la adhesión o no. Sin embargo, aún queda en duda la posibilidad de microfiltración usando adhesivos universales y si realmente todos, independientemente de la marca, pueden ofrecer lo mismo. ^{14, 17, 19, 22}

El adhesivo Single Bond Universal de la marca 3M, utiliza una tecnología única y singular en un único producto; es capaz de unir, sellar y más, aquellas restauraciones directas e indirectas, así como también la adhesión en cualquier superficie que se requiere. Aporta una unión rápida y confiable, en aquellos casos que se emplee un protocolo de grabado total, autograbado o un grabado selectivo. Es un agente de unión fácil de usar, ya que es de un paso y requiere únicamente una capa para lograr un resultado eficaz. Sumado a ello, es un sistema resistente que no requiere de una base adicional. ²³

El adhesivo All-Bond Universal de BISCO es un sistema de unión de un solo componente; es decir, combina los pasos de grabado, imprimación y unión en un solo frasco. No obstante, si se requiere puede utilizarse con o sin grabador de ácido grabador. Está diseñado con una base de agua y etanol, que se otorga propiedades de adhesión en sustratos como la dentina y esmalte cuando ha sido preparado y cuando no. Es el agente de unión de elección en todo tipo de restauraciones, y cumple también la función de desensibilización y sellado de

dientes cuando se ha desgastado previamente el diente por motivos protésicos o restauradores.²⁴

1.3. Marco Conceptual

Microfiltración

Movimiento de bacterias, fluidos, moléculas, iones o aire entre la pared de la cavidad del diente y el material restaurador.³

Adhesivos Dentales

Los adhesivos dentales son soluciones de monómero de resina que permiten la unión del material restaurador (resina) – sustrato – (diente).²⁵

1.4. Sistema de hipótesis

1.4.1. Hipótesis de investigación:

Hipótesis nula (H_0):

No existe microfiltración en los dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo en dientes in vitro.

Hipótesis alterna (H_a):

Si existe microfiltración en los dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo en dientes in vitro.

1.4.2. Variables e indicadores

| Variable | Definición Conceptual | Definición Operacional e indicadores | Tipo de variable | | Escala de Medición |
|---------------------------|--|---|------------------|---------------|--------------------|
| | | | Naturaleza | Función | |
| Microfiltración | Movimiento de bacterias, fluidos, moléculas, iones o aire entre la pared de la cavidad del diente y el material restaurador. ³ | -Medición de microfiltración en esmalte y dentina en micras (μm) | Cuantitativa | Dependiente | De razón |
| Adhesivos Dentales | Los adhesivos dentales son soluciones de monómero de resina que permiten la unión del material restaurador (resina) – sustrato – (diente). ²⁵ | -Single Bond Universal-3M -All Bond Universal - BISCO | Cualitativa | Independiente | Nominal |

III. METODOLOGÍA EMPLEADA

3.1. Tipo y nivel de Investigación

- ✓ Nivel de investigación: Experimental
- ✓ Tipo: Aplicada

3.2. Población y muestra de estudio

Población: La población muestral a examinar durante la ejecución de esta investigación estuvo constituida por 32 dientes premolares extraídos por motivos ortodóncicos, donados por un consultorio odontológico en la ciudad de Trujillo.

Criterios de inclusión

- ✓ Premolar libre de restauración.

Criterios de exclusión

- ✓ Premolar con defectos estructurales.

Criterios de eliminación

- ✓ Premolar que durante el procedimiento se contaminó.

3.3. Diseño de Investigación

| Número de mediciones | Número de grupos a estudiar | Tiempo en el que ocurrió el fenómeno a estudiar | Forma de recolectar los datos | Posibilidad de intervención del investigador |
|-----------------------------|------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| Transversal | Comparativo | Prospectivo | Prolectivo | Experimental |

Unidad de muestreo: Premolar extraído con una cavidad preparada clase I de 3x3 mm con adhesivo A o B.

Unidad de análisis: Premolar extraído con una cavidad preparada clase I de 3x3 mm con adhesivo A o B.

Tamaño muestral:

Para determinar el tamaño de muestra se hará uso de la fórmula de comparación de grupos para variables cuantitativas.

$$m = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 (S_1^2 + S_2^2)}{(X_1 - X_2)^2}$$

Donde:

- $Z_{\alpha/2}$ = Representa un valor de 2.576 para una confianza del 99%.
- Z_{β} = Representa un valor de 1.645 para una potencia del 5%.
- X_1 = Representa un valor de 4.42 promedio de microfiltración (μm) en el adhesivo A, según muestra de prueba piloto.
- X_2 = Representa un valor de 1.65 promedio de microfiltración (μm) en el adhesivo B, según muestra de prueba piloto.
- S_1 = Representa un valor de 1.604 promedio de variación de la microfiltración (μm) en el adhesivo A, según muestra de prueba piloto.
- S_2 = Representa un valor de 2.041 promedio de variación de la microfiltración (μm) en el adhesivo B, según muestra de prueba piloto.

Reemplazando:

$$m = \frac{(2.576 + 1.645)^2 (1.604^2 + 2.041^2)}{(4.42 - 1.65)^2}$$

$$m = 15,64711 = 16$$

- Por lo tanto, la muestra estuvo conformada por 16 premolares superiores para cada adhesivo.

Tipo de muestreo

Se utilizó el muestreo no probabilístico por conveniencia.

3.4. Técnicas e instrumentos de Investigación

Técnica: Observación

Instrumento:

✓ **Microfiltración**

La microfiltración fue observada en el estereomicroscopio y se determinó la profundidad del tinte. Este instrumento es de la marca Olympus, en el modelo SZ2- ILST y se encontró disponible en el Laboratorio de Investigación Multidisciplinario (LABINM) de la Universidad Privada Antenor Orrego.

CONFIABILIDAD

La persona encargada de realizar las mediciones de la microfiltración en el estereomicroscopio marca Olympus, en el modelo SZ2- ILST; se realizó una calibración con un experto (calibración interexaminador) y consigo mismo (calibración intraexaminador) 5 días después de haber realizado la primera medición. La prueba de la calibración fue realizada con 10 muestras. Para la calibración de la microfiltración se empleó el Coeficiente de Correlación Intraclase, en el que se obtuvo como resultado un CCI de 0.894, el cual indica una concordancia casi perfecta (ANEXO 1). Se anexa constancia de calibración. (ANEXO 2)

PROCEDIMIENTO

De la aprobación del proyecto

El proyecto de investigación fue aprobado con Resolución Decanal (ANEXO 3) y posteriormente se aprobó por el Comité de Bioética de la misma entidad (ANEXO 4)

De la autorización para ejecución

Una vez aprobado el proyecto se procedió a solicitar una carta de presentación para el Director del LABINM de la Universidad Privada Antenor Orrego (ANEXO 5); posteriormente se pidió la autorización correspondiente, al Director del LABINM para utilizar un equipo de laboratorio (ANEXO 6) y al laboratorio de la Universidad Ricardo Palma para poder realizar la correspondiente ejecución. (ANEXO 7)

De la recolección de la muestra

Se seleccionaron premolares que hayan sido extraídos por motivos ortodóncicos u otras afecciones, que fueron donados por un consultorio odontológico. Estos fueron almacenados en suero fisiológico hasta que se logró conseguir el total de la muestra requerida; este proceso tomó aproximadamente dos meses de espera y la selección para la división de grupos fue de manera aleatoria.

Una vez que se completó la muestra, se realizaron las restauraciones en cavidades clase I (oclusal), con un tamaño de 3x3mm; para corroborar la medida de cada cavidad se empleó una sonda periodontal Carolina del Norte – Hu Friedy.

Se utilizaron los protocolos de adhesión siguiendo las instrucciones de los fabricantes manuales de los adhesivos, en conjunto con un grabado ácido

selectivo del esmalte. Una vez preparadas las cavidades, se lavaron a conciencia y se eliminó el exceso de agua con ayuda de la jeringa triple; seguidamente se aplicó ácido grabador únicamente en esmalte y se dejó reposar durante 15 segundos, para después lavar durante 30 segundos con abundante agua y secar de manera indirecta la cavidad.

Posteriormente, para la aplicación de los adhesivos se realizaron los siguientes pasos: En el grupo A (Single Bond – 3M), se aplicó el adhesivos con un microbrush por toda la superficie del diente frotando durante 20 segundos; con ayuda de la jeringa triple se sopló durante aproximadamente 5 segundos y se fotocuró durante 10 segundos. Para el grupo B (All Bond- BISCO), se aplicaron 2 capas separadas del adhesivo con ayuda de un microbrush, frotando toda la cavidad durante 15 segundos, utilizando uno nuevo entre capa y capa, y dejando que se volatilice el disolvente durante 10 segundos; al finalizar la aplicación se fotocuró durante 10 segundos y se procedió a realizar las restauraciones con resina en todas piezas dentarias.

Para la aplicación del material restaurador, en ambos grupos se utilizó la resina z250 de la casa dental 3M, la cual se fue agregando a la cavidad utilizando la técnica incremental de hasta 2 mm por capa.

Asimismo, para sellar las restauraciones se fotocuraron las capas de resina por 10 segundos. Se utilizó la lámpara LED de la casa dental Bluephase N, que se encontraba debidamente calibrada y que presentaba una intensidad real de 1650 mw/cm^2 .

Después se sellaron las raíces de los dientes con ayuda de barniz de uñas, de un color de cada grupo para poder diferenciar los adhesivos que se utilizaron.

Terminadas las restauraciones, se sometió a las piezas dentarias a un proceso de envejecimiento con un equipo de termociclado en el modelo 2720 Thermal Cycler, que se encontró disponible en la Universidad Ricardo Palma; con el que se simuló el paso del tiempo a través de diferentes temperaturas como 5° y 55°C +- por intervalos de 10 segundos por cambio de temperatura, reuniendo en total 1500 ciclos.

Culminado el procedimiento de termociclado, se colocaron en un recipiente con violeta de genciana por 24 horas en donde el tinte penetró completamente en la estructura dentaria.

Pasadas las 24 horas, se sacaron y realizaron cortes transversales en las piezas dentarias con ayuda de un disco de diamante, y posteriormente fueron observadas en el estereomicroscopio y se determinó la microfiltración del tinte con un aumento de 40X para confirmar la profundidad del colorante dentro de las restauraciones. Este instrumento es de la marca Olympus, en el modelo SZ2-ILST y se encontró disponible en el Laboratorio de Investigación Multidisciplinario (LABINM) de la UPAO.

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos se recolectaron en una ficha elaborada específicamente para este experimento. (ANEXO 8)

3.5. Procesamiento y análisis de datos

Con el fin de procesar la información se empleó el programa de Microsoft Office Excel 2021, estos serán codificados conforme a lo dispuesto en la operacionalización de variables.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Para analizar la información se elaboraron tablas de frecuencia unidimensionales con sus valores absolutos, promedios y desviación estándar.

ESTADÍSTICA INFERENCIAL

Para determinar la eficacia adhesiva se empleó la prueba de comparación de mediana, utilizando la distribución de U Mann-Whitney con un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$), previa verificación de los supuestos de normalidad.

IV. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis e Interpretación de resultados

El presente estudio tuvo como objetivo Comparar la eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro. Se obtuvo los siguientes resultados:

Existe diferencia en la microfiltración en esmalte entre el Single Bond Universal-3M y el All Bond Universal – BISCO ($p < 0,0001$), pero no existe diferencia en la microfiltración en dentina ($p = 0,2708$) **(Tabla 1)**

Se evidencia microfiltración en esmalte con un valor de 5.108 y en dentina un valor de 1.584 con el adhesivo Single Bond Universal-3M. **(Tabla 2).**

Se evidencia microfiltración en esmalte con un valor de 1.880 y en dentina un valor de 0.922 con el adhesivo All Bond Universal – BISCO. **(Tabla 3).**

Tabla 1

Comparación de la eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro

| ADHESIVO | ESMALTE | | | DENTINA | | |
|----------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------|
| | <i>Rango Promedio</i> | <i>U de Mann - Whitney</i> | <i>Significancia (p)</i> | <i>Rango Promedio</i> | <i>U de Mann - Whitney</i> | <i>Significancia (p)</i> |
| SINGLE BOND UNIVERSAL - 3M | 22.88 um | 26.0 | 0.0001 | 18.16 um | 101.5 | 0.2708 |
| ALL BOND UNIVERSAL- BISCO | 10.13 um | | | 14.84 um | | |

Tabla 2

Microfiltración del adhesivo Single Bond Universal - 3M en esmalte y dentina

| Parámetros para la microfiltración (um) | En esmalte | En dentina |
|--|-------------------|-------------------|
| Valor mínimo | 3.2 um | 0.00 um |
| Valor máximo | 7.22 um | 6.20 um |
| Mediana | 5.175 | 1.37 |
| Mediana | 5.108 | 1.584 |
| Desviación Estándar | 1.0186 | 1.8747 |

Tabla 3

Microfiltración del adhesivo All Bond Universal - BISCO en esmalte y dentina

| Parámetros para la microfiltración (um) | En esmalte | En dentina |
|--|-------------------|-------------------|
| Valor mínimo | 0.00 um | 0.00 um |
| Valor máximo | 5.36 um | 4.18 um |
| Mediana | 0.960 | 0.00 |
| Mediana | 1.880 | 0.922 |
| Desviación Estándar | 2.1223 | 1.5244 |

4.2. Docimasia de hipótesis

Contrastación de hipótesis

Correlación de variables

| <i>Prueba Estadística</i> | <i>Variables</i> | <i>Coficiente</i> | <i>n</i> | <i>sig.*</i> |
|---------------------------|--|-------------------|----------|--------------|
| U de Mann Whitney | Microfiltración Adhesivos Dentales | 0.26 | 16 | 0.001 |

Fuente: Software SPSS v.26

Método

Hipótesis nula: No existe diferencia entre las variables

Hipótesis alterna: Existe diferencia entre las variables

Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

Regla de Decisión

P (sig.) > 0.05, Se acepta la Hipótesis Nula

P (sig.) < 0.05, Se rechaza la Hipótesis Nula (acepta la Hipótesis alterna)

Información del factor

| Variabes | Valores |
|----------|-------------------------------------|
| 2 | Microfiltración, adhesivos dentales |

Resolución

Mediante la prueba estadística no paramétrica U de Mann Whitney que evalúa la comparación entre variables, se obtuvo un valor de $p < 0.0001$, la cual conlleva a rechazar la hipótesis nula, es decir aceptar la hipótesis alterna.

Conclusión

Aceptar la hipótesis alterna, es decir, existe diferencia en la microfiltración en esmalte y dentina usando los adhesivos universales Single Bond Universal-3M y el All Bond Universal – BISCO.

V. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Al finalizar el experimento, el análisis de los resultados de la investigación demuestra que existe una mayor microfiltración en esmalte que en dentina en ambos grupos de adhesivos. Castro et al. menciona que los sistemas adhesivos universales, a pesar de tener entre sus componentes sustancias que permiten el acondicionamiento de la superficie, presentan resultados similares en función de la microfiltración cuando se emplea un acondicionamiento selectivo con ácido. Sin embargo, Bin Shuwaish et al. en su estudio afirma que realizar un grabado selectivo del esmalte disuelve los cristales de hidroxiapatita creando una estructura porosa y retentiva en la superficie, a la vez aumenta la humectabilidad y energía libre superficial; muy por el contrario, cuando se graba con ácido la dentina, disminuye la humectabilidad y ocurre hidrólisis del adhesivo, lo que impide cualquier posible unión química con los grupos fosfato de los adhesivos universales.^{2, 6, 8}

Existen algunas controversias con respecto al efecto de los agentes adhesivos de autograbado en esmalte. Según Ranjbar et al. la diferencia en los resultados de los estudios puede deberse a diferentes factores de confusión, como la acidez de los adhesivos, diferentes metodologías y diversas pruebas de unión. Los adhesivos empleados en la presente investigación son considerados según Bin Shuwaish et al. como ácidos suaves; no obstante, existe la posibilidad de contribuir con la microfiltración de sustancias durante la interfase de la restauración. Por otro lado, la microfiltración en el margen de la dentina se considera un problema común en las restauraciones; una de las razones es que la dentina contiene un alto porcentaje de componentes orgánicos, lo que hace que la unión sea más difícil que la del esmalte.^{2, 6, 7}

Bin Shuwaish et al. menciona que la fuerza de unión de los adhesivos de autograbado depende también de la composición del adhesivo; en algunos adhesivos de autograbado se agrega metacrilato de 2 hidroxietilo (HEMA) para mejorar la propiedad humectante y evitar la separación de los componentes; sin embargo, este componente también puede retener agua; disminuir el grado de conversión, provocar degradación hidrolítica y comprometer la durabilidad de la interfaz a largo plazo. Asimismo existen otros componentes como son los monómeros de fosfato (MDP), que intervienen en la unión de autograbado y que pueden mejorar significativamente la unión en comparación con HEMA.^{6, 7}

En la presente investigación, la muestra del grupo B (Adhesivo BISCO) presentó menor cantidad de piezas dentarias con microfiltración en esmalte en comparación con la del grupo A (3M), lo que estadísticamente representa una diferencia significativa ($p < 0.05$). No obstante, en dentina no existe una discrepancia significativa. Según Bin-Shuwaish et al., la diferencia en la estructura de hidroxiapatita en la dentina y el esmalte pueden explicar el patrón interactivo del MDP con estos sustratos; asimismo, el tamaño más pequeños y la menor cantidad de cristales de hidroxiapatita, así como la orientación cruzada de estos en la dentina en comparación con el esmalte, hacen que la dentina sea más receptiva para formar un enlace químico con MDP.^{6, 10, 17}

Pranckevičienė et al. menciona que emplearon un equipo de termociclado que consistió en 3000 ciclos debido a que se habían realizado investigaciones que demostraban que 6000 ciclos equivalían a 5 años en boca. Sin embargo, aunque el número de ciclos marcan una diferencia en la resistencia de unión, menciona que el número de ciclos puede manejarse dependiendo del experimento, tal es el caso

del presente estudio en donde se realizaron 1500 ciclos que simulan un poco más de 1 año en boca.^{2, 8}

De la misma manera, uno de los antecedentes considerados en este estudio que más se asemeja al presente es el de Castro et al. en el que consideraron someter a sus muestras a 500 ciclos en el termociclador, con la temperatura de entre 5 y 55° C, que es la misma con la que venían trabajando en las investigaciones ya mencionadas, y la que se siguió en este experimento.²

Al ser un estudio experimental in vitro, sólo se pueden obtener resultados aproximados a lo que sucede y se aprecia realmente en la cavidad oral; esto debido a que existen factores como la humedad, oclusión dentaria, pH, temperatura, entre otros que se intentan simular con el equipo de termociclado, que imita el estrés térmico y la humedad que se observa clínicamente.^{2, 7, 8, 17}

En el presente estudio se realizaron restauraciones en cavidades clase I, basándonos en un estudio realizado en el que se pudieron apreciar mejor los sustratos al realizar los cortes transversales y de esa manera observarlos en el estereoscopio; además son mucho más prácticos y permiten tener un mejor control de la medida de la cavidad.²⁶

Las limitaciones de la investigación fueron los escasos estudios previos relacionados a la eficacia adhesiva en la microfiltración de los adhesivos universales en los que se utilice un protocolo idéntico al utilizado en el experimento expuesto.

CONCLUSIONES

1. Existe una diferencia significativa entre los adhesivos universales All Bond Universal (BISCO) y Single Bond Universal (3M) únicamente en esmalte.
2. El adhesivo Single Bond Universal de 3M presentó mayor microfiltración en esmalte y dentina.
3. El adhesivo All Bond Universal de BISCO presentó menor microfiltración en esmalte y dentina.

RECOMENDACIONES

1. Considerar una muestra más extensa en donde pueda observarse una diferencia significativa en la microfiltración en dentina de ambos adhesivos a comparar.
2. Aumentar los ciclos de termociclado, con el fin de mejorar la simulación del paso del tiempo en dichas restauraciones.
3. Realizar otros estudios en donde se comparen los adhesivos universales con y sin grabado selectivo del esmalte para complementar la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mandri N., Aguirre A., Zamudio M. E. Sistemas adhesivos en Odontología Restauradora. Odontoestomatología. 2015. 17 (26): 50-56. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392015000200006&lng=es.
2. Castro O., Medina E., Huertas G., et al. Grado de microfiltración marginal utilizando adhesivos con técnica grabado total y grabado selectivo del esmalte. Rev. Estomatol. Herediana. 2018. 28(3): 153-9. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_isoref&pid=S1019-43552018000300003&lng=es&tlng=es#:~:text=http%3A/www.scielo.org.pe/scielo.php%3Fscript%3Dsci_arttext%26pid%3DS1019%2D4355201800030003%26lng%3Des.%C2%A0
<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.20453/reh.v28i3.3392>.
3. Affur M. C., Gili M. A., Bessone G. G. Análisis del espesor de los tejidos duros en la dentición permanente humana. Odontol. Sanmarquina. 2020; 23(4):401-407. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/18366>
4. Arguello R., Guerrero J., Celis L. Microfiltración in vitro de tres sistemas adhesivos con diferentes solventes. Rev. Odont. Mex. 2012. 16(3): 188-192. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2012000300006&lng=es.
5. Perdigão J. Current perspectives on dental adhesion: Dentin adhesion. Japanese Dental Science Review. Elsevier. 2020. 190-207. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1882761620300120?via%3Dihub>

6. Bin Shuwaish M., AlHussaini A. , AlHudaithy L. H., et al. An in vitro evaluation of microleakage of resin based composites bonded to chlorhexidine- pretreated dentin by different protocols of a universal adhesive system. Saudi Dental Journal, 2021; 33, 503-510. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8589575/>
7. Ranjbar Omid B., Heidari S., Farahbakhshpour F., Tavakolian Ardakani E., Mirzadeh M. The Effect of Dental Adhesive Composition and Etching Mode on microleakage of Bonding Agents in Primary Molar Teeth. J dent Shiraz Univ Med Sci., 2022; 23: 393-401. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9789334/>
8. Pranckeviciene A. Narbutaite R., Siudikiene J., et al. An in vitro evaluation of microleakage of class V composite restorations using universal adhesive under different levels of cavity moisture conditions. Stomatologija. Baltic Dental and Maxillofacial Journal, 2019. 21: 113-8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32672716/>
9. Hidago C. Tratamiento rehabilitador estético-oclusal con resinas compuestas en una paciente con mordida profunda y desgaste severo. Int. J. Odontostomat., 14(1):73-80, 2020. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2020000100073&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000100073>.
10. Valizadeh S, Moradi A, Mirazei M, Amiri H, Kharazifard MJ. Fuerza de unión de microcizallamiento de diferentes sistemas adhesivos a la dentina. Abolladura frontal. 2019 Julio-Agosto;16(4):265-271. DOI: 10.18502/fid.v16i4.2085. Epub 2019 Agosto 30. PMID: 32342055; PMCID: PMC7181353. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7181353/>
11. Pouyanfar H, Tabaii ES, Aghazadeh S, Nobari SPTN, Imani MM. Resistencia de unión microtensada del compuesto al esmalte utilizando adhesivo universal con / sin grabado ácido en comparación con el grabado y el enjuague y

- los agentes de unión de autograbado. 2018 Nov 22;6(11):2186-2192. DOI: 10.3889/OAMJMS.2018.427. PMID: 30559887; PMCID: PMC6290427. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30559887/>
12. Berman L., Hargreaves K., Cohen. Vías de la pulpa. 12° Edición. Barcelona; Elsevier España; 2021. cap 24, p. 929.
 13. Yamauchi K, Tsujimoto A, Jurado CA, Shimatani Y, Nagura Y, Takamizawa T, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M. Etch-and-rinse vs self-etch mode for dentin bonding effectiveness of universal adhesives. J Oral Sci. 2019 Nov 27;61(4):549-553. doi: 10.2334/josnusd.18-0433. Epub 2019 Oct 21. PMID: 31631096. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31631096/>
 14. Stape THS, Wik P, Mutluay MM, Al-Ani AAS, Tezvergil-Mutluay A. Grabado selectivo de dentina: Un método potencial para mejorar la efectividad de unión de adhesivos universales. J Mech Behav Biomed Mater. 2018 Octubre;86:14-22. doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.06.015. Epub 2018 Junio 8. PMID: 29913306. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29913306/>
 15. Vermelho PM, Reis AF, Ambrosano GMB, Giannini M. Adhesion of multimode adhesives to enamel and dentin after one year of water storage. Clin Oral Investig. 2017 Jun;21(5):1707-1715. doi: 10.1007/s00784-016-1966-1. Epub 2016 Oct 7. PMID: 27714528. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27714528/>
 16. Kharouf N, Rapp G, Mancino D, Hemmerlé J, Haikel Y, Reitzer F. Effect of etching the coronal dentin with the rubbing technique on the microtensile bond strength of a universal adhesive system. Dent Med Probl. 2019;56(4):343-348. Doi: 10.17219/dmp/111697 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31794165/>
 17. N Moritake, T Takamizawa, R Ishii, A Tsujimoto, WW Barkmeier, MA Latta, M Miyazaki; Efecto de la aplicación activa en la durabilidad de la unión de adhesivos universales. Oper Dent 1 de marzo de 2019; 44 (2): 188–199. doi:

<https://doi.org/10.2341/17-384-L>
[med.ncbi.nlm.nih.gov/30106329/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30106329/)

Disponible en: <https://pub->

18. Demirel G, Baltacıoğlu İ. The influence of different etching modes and etching time periods on micro-shear bond strength of multi-mode universal adhesives on dentin. *Journal of Stomatology*. 2019;72(3):118-128. Doi:10.5114/jos.2019.87527. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/335699947> The influence of different etching modes and etching time periods on micro-shear bond strength of multi-mode universal adhesives on dentin
19. Rodas W., Vintimilla S., Morales B. Uso de adhesivo universal con pregrabado y autograbado en tejidos duros del diente. *Medicentro Electrónica* [Internet]. 2022 Dic [citado 2023 Jun 20]; 26(4): 897-914. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_isoref&pid=S1029-30432022000400897&lng=es&tlng=es
20. Kaczor K, Krasowski M, Lipa S, Sokolowski J, Nowicka A. How do the Etching Mode and Thermomechanical Loading Influence the marginal Integrity of Universal Adhesives. *Oper Dent* [Internet]. Jun.2020 [Citado 26 de junio 2023];45 (3) DOI: 10.2341/19-002-L Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31750802/>
21. Ouchi H., Tsujimoto A., Nojiri K., Hirai K., Takamizawa T., Barkmeier W., et al; Efecto de la capa de inhibición de oxígeno de adhesivos universales sobre la durabilidad de la fatiga de la unión del esmalte y las características interfaciales con diferentes modos de grabado. *Oper Dent* 1 de noviembre de 2017; 42 (6): 636–645. doi: <https://doi.org/10.2341/16-255-L> Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28976848/>
22. Campos M., Moura D., Borges B., Assuncao I, Caldas M., Platt J., et al.. Influence of Acid Etching and Universal Adhesives on the Bond Strength to Dentin. *Braz Dent J* [Internet]. 2020May;31(3):272–80. Available from:

- <https://doi.org/10.1590/0103-6440202002884> Disponible en: <https://pub-med.ncbi.nlm.nih.gov/32667522/>
23. Single bond universal adhesive- 3M [citado el 13 de mayo de 2023]. Disponible en: https://www.3m.com.pe/3M/es_PE/p/d/v000201122/
24. All- bond universal adhesive- Bisco [citado el 25 de junio de 2023] Disponible en: https://www.bisco.com/assets/1/22/All_Bond_Universal_Spanish6.pdf
25. Sofan E., Sofan A., Palaia G., et al. Classification review of dental adhesive systems: from the IV generation to the universal type. *Annali di Stomatologia*. 2017. VIII (1):1-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5507161/>
26. Cáceres LM, Núñez H., Perdomo M. Evaluación de la microfiliación en restauraciones con resina Clase I. *Rev. Estomatol. Herediana* [Internet]. 2021 Oct [citado 2024 Jun 02]; 31(4): 242-247. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552021000400242&lng=es.

ANEXOS

ANEXO 1. . EVIDENCIAS DE CALIBRACIÓN

Comfiabilidad del instrumento

COEFICIENTE DE CORRELACION INTRACLASE- CALIBRACION

VARIABLE: Microfiltración

| Calibración | Variable | Coeficiente | Intervalo de confianza al 95% | p* |
|------------------|---------------|-------------|-------------------------------|-------|
| /nter-evaluación | MIOFILTRACION | 1.000 | 0.998- 1.000 | 0.000 |

*Coeficiente de correlación intraclassa – SPSS v.26

Interpretación:

Mediante el coeficiente de correlación intraclassa (CCI) = 1.000, cuyo valor es mayor a 0.80 (aceptable), indicamos que las mediciones obtenidas por el investigador en tiempos distintos, presentan concordancia casi perfecta.

VARIABLE: Microfiltración,

| Calibración | Variable | Coeficiente | Intervalo de confianza al 95% | p* |
|------------------|---------------|-------------|-------------------------------|-------|
| /nter-evaluación | MIOFILTRACION | 0.894 | 0.998- 1.000 | 0.000 |

*Coeficiente de correlación intraclassa – SPSS v.26

Interpretación:

Mediante el coeficiente de correlación intraclassa (CCI) = 0.894, cuyo valor es mayor a 0.80 (aceptable), indicamos que las mediciones obtenidas por el investigador con el experto en tiempos distintos, presentan concordancia casi perfecta.

Tablas de interpretación

| Valor CCI | Concordancia |
|---------------|---------------|
| Menos de 0.20 | Mala |
| 0.21 a 0.40 | Regular |
| 0.41 a 0.60 | Moderada |
| 0.61 a 0.80 | Aceptable |
| 0.81 a 1.00 | Casi perfecta |




Sergio Albert Chalque Viteri
Licenciado en Estadística
COESPEN° 1115


Dr. José Guillermo González Cabeza
JEFE
UNIDAD DE CENTROS DE INVESTIGACIÓN



ANEXO 2. CONSTANCIA DE CALIBRACIÓN DE MEDICIÓN EN EL ESTEREOMICROSCOPIO

 **UPAO**
UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO ORREGO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Centros de Investigación

"Año de la Unidad, la Paz y el Desarrollo"

Trujillo, 20 de junio del 2023

CONSTANCIA DE CALIBRACIÓN

Yo, José Guillermo Gonzáles Cabeza, jefe responsable de la Oficina de Centros de Investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego, hago constar que he realizado la calibración inter examinador para la interna y tesista del Programa de Estudios de Estomatología, Diana Cecilia Velásquez Rumay, para evidenciar la confiabilidad en el procedimiento de recolección de datos de la tesis titulada "Eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro".

Doy fe de lo expresado,


CD. Gabriela Alvarado Quispe
C.O.P. 26727


Dr. José Guillermo González Cabeza
JEFE
UNIDAD DE CENTROS DE INVESTIGACIÓN



 **Trujillo**
Av. América Sur 3145 Monserrate
Teléfono [+51] [044] 604444
anexos: 2034
Trujillo - Perú

ANEXO 3. RESOLUCIÓN DE APROBACIÓN POR LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA



UPAO

Facultad de Medicina Humana
DECANATO

Trujillo, 08 de setiembre del 2023

RESOLUCION N° 3297-2023-FMEHU-UPAO

VISTO, el expediente organizado por Don (ña) **VELÁSQUEZ RUMAY DIANA CECILIA** alumno (a) del Programa de Estudios de Estomatología, solicitando **INSCRIPCIÓN** de proyecto de tesis Titulado **"EFICACIA ADHESIVA EN LA MICROFILTRACIÓN DE DOS ADHESIVOS UNIVERSALES USANDO LA TÉCNICA DE GRABADO SELECTIVO DEL ESMALTE EN DIENTES IN VITRO"**, para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista, y;

CONSIDERANDO:

Que, el (la) alumno (a) **VELÁSQUEZ RUMAY DIANA CECILIA**, esta cursando el curso de Tesis I, y de conformidad con el referido proyecto revisado y evaluado por el Comité Técnico Permanente de Investigación y su posterior aprobación por el Director del Programa de Estudios de Estomatología, de conformidad con el Oficio N° **0525-2023-ESTO-FMEHU-UPAO**;

Que, de la Evaluación efectuada se desprende que el Proyecto referido reúne las condiciones y características técnicas de un trabajo de investigación de la especialidad;

Que, habiéndose cumplido con los procedimientos académicos y administrativos reglamentariamente establecidos, por lo que el Proyecto debe ser inscrito para ingresar a la fase de desarrollo;

Estando a las consideraciones expuestas y en uso a las atribuciones conferidas a este despacho;

SE RESUELVE:

- Primero.- **AUTORIZAR** la inscripción del Proyecto de Tesis intitulado **"EFICACIA ADHESIVA EN LA MICROFILTRACIÓN DE DOS ADHESIVOS UNIVERSALES USANDO LA TÉCNICA DE GRABADO SELECTIVO DEL ESMALTE EN DIENTES IN VITRO"**, presentado por el (la) alumno (a) **VELÁSQUEZ RUMAY DIANA CECILIA**, en el registro de Proyectos con el **N°1080-ESTO** por reunir las características y requisitos reglamentarios declarándolo expedito para la realización del trabajo correspondiente.
- Segundo.- **REGISTRAR** el presente Proyecto de Tesis con fecha **08.09.23** manteniendo la vigencia de registro hasta el **08.09.25**.
- Tercero.- **NOMBRAR** como Asesor de la Tesis al (la) profesor (a) **ALDAVE QUEZADA GABRIELA KATHERINE**.
- Cuarto.- **DERIVAR** al Señor Director del Programa de Estudios de Estomatología para que se sirva disponer lo que corresponda, de conformidad con la normas Institucionales establecidas, a fin que el alumno cumpla las acciones que le competen.
- Quinto.- **PONER** en conocimiento de las unidades comprometidas en el cumplimiento de lo dispuesto en la presente resolución.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.



Katherine Lozano Peralta
Decana (e)

c.c.
PEESTO
ASESOR
EXPEDIENTE
Archivo



Dr. Óscar del Castillo Huertas
Secretario Académico (e)

ANEXO 4. RESOLUCIÓN DE APROBACIÓN POR EL COMITÉ DE ÉTICA

| | |
|--|--|
|  UPAO <small>UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO ORRIGO</small> | COMITÉ DE BIOÉTICA EN INVESTIGACIÓN |
|--|--|

RESOLUCIÓN COMITÉ DE BIOÉTICA N°0712 - 2023-UPAO

Trujillo, 24 de septiembre del 2023

VISTO, el correo electrónico de fecha 24 de septiembre del 2023 presentado por el (la) alumno (a), quien solicita autorización para realización de investigación, y;

CONSIDERANDO:

Que, por correo electrónico, el (la) alumno (a), VELÁSQUEZ RUMAY DIANA CECILIA, solicita se le de conformidad a su proyecto de investigación, de conformidad con el Reglamento del Comité de Bioética en Investigación de la UPAO.

Que en virtud de la Resolución Rectoral N°3335-2016-R-UPAO de fecha 7 de julio de 2016, se aprueba el Reglamento del Comité de Bioética que se encuentra en la página web de la universidad, que tiene por objetivo su aplicación obligatoria en las investigaciones que comprometan a seres humanos y otros seres vivos dentro de estudios que son patrocinados por la UPAO y sean conducidos por algún docente o investigador de las Facultades, Escuela de Posgrado, Centros de Investigación y Establecimiento de Salud administrados por la UPAO.

Que, en el presente caso, después de la evaluación del expediente presentado por el (la) alumno (a), el Comité Considera que el proyecto no contraviene las disposiciones del mencionado Reglamento de Bioética, por tal motivo es procedente su aprobación.

Estando a las razones expuestas y de conformidad con el Reglamento de Bioética de investigación;

SE RESUELVE:

PRIMERO: APROBAR el proyecto de investigación: Titulado "EFICACIA ADHESIVA EN LA MICROFILTRACIÓN DE DOS ADHESIVOS UNIVERSALES USANDO LA TÉCNICA DE GRABADO SELECTIVO DEL ESMALTE EN DIENTES IN VITRO".

SEGUNDO: DAR cuenta al Vicerrectorado de Investigación.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.


Dra. Lissett Jeanette Fernandez Rodriguez
Presidente del Comité de Bioética
UPAO




CD. Gabriela Alcave Quispe
C.O.P. 26727



TRUJILLO
Av. América Sur 3145 - Urb. Monserrate - Trujillo
comite_bioetica@upao.edu.pe
Trujillo - Perú

ANEXO 5. CARTA DE PRESENTACIÓN PARA UTILIZAR UN EQUIPO DEL LABINM

 **UPAO**
UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS Y LETRAS

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
Programa de Estudio de Estomatología

Trujillo, 16 de junio de 2023

CARTA N° 0064-2023-ESTO-FMEHU-UPAO

Señor:
JOSE GUILLERMO GONZALEZ CABEZA
Jefe de la Unidad de Centros de Investigación
Presente. -

De mi consideración:

Mediante la presente reciba un cordial saludo y, a la vez, presentar a, **DIANA CECILIA VELASQUEZ RUMAY**, estudiante del Programa de Estudios, quien realizará trabajo de investigación para poder optar el Título Profesional de Cirujano Dentista.

Motivo por el cual solicito le brinde las facilidades a nuestra estudiante en mención, quien a partir de la fecha estará pendiente con su persona para las coordinaciones que correspondan.

Sin otro particular y agradeciendo la atención brindada, es propicia la oportunidad para reiterarle los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente


Dr. JORGE EDUARDO VASQUEZ ZAVALETA
Director(e) del Programa de Estudios de Estomatología

Cc: Archivo
 Correo Calle


CD. Gabriela Alvarado Quispe
C.O.P. 26727

 **Trujillo**
Av. América Sur 3145 Monserrate
Teléfono [+51] (044) 604444
anexos: 2338
Trujillo - Perú

ANEXO 6. SOLICITUD PARA OBTENER EL PERMISO PARA OBSERVAR LAS MUESTRAS DEL PROYECTO EN EL LABINM



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Centros de Investigación

"Año de la Unidad, la Paz y el Desarrollo"

Trujillo, 09 de octubre de 2023

Señor:
JOSÉ GUILLERMO GONZALEZ CABEZA
Jefe de la Unidad de Centros de Investigación

Presente.-

Por medio del presente documento, yo, **DIANA CECILIA VELÁSQUEZ RUMAY**, interna y tesista del programa de estudios de estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego, identificada con DNI 72280567, ID 000183578 y domiciliada en Psje. Mondoñedo 249 – Huamán; me dirijo a Ud. con el debido respeto y expongo:

Por motivo de realizar mi proyecto de tesis concerniente a "Eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro", preciso de microscopio estereoscópico con el cual pueda llevar a cabo la observación de los especímenes en donde realizaré mi experimento; por lo que acudo a Ud. para que me permita el acceso al laboratorio que posea dicho equipo.

Por lo expuesto, es justicia que espero alcanzar.

Atentamente



Diana Cecilia Velásquez Rumay

DNI 72280567



CD. Gabriela Alcave Quizada
C.O.P. 20727



Trujillo
Av. América Sur 3145 Monserrate
Teléfono [+51] (044) 604444
anexos: 2034
Trujillo - Perú

ANEXO 7. SOLICITUD PARA OBTENER PERMISO PARA EL USO DEL TERMOCICLADOR DE LA UNIVERSIDAD RICARDO PALMA



UNIVERSIDAD
RICARDO PALMA

"Año de la Unidad, la Paz y el desarrollo"

Trujillo, 28 de Septiembre de 2023

Señor:
GUILLERMO LEGUÍA PUENTE
Director de La Escuela de Medicina Veterinaria

Estimado doctor Guillermo Leguía Puente:

Por intermedio del presente documento, yo, **DIANA CECILIA VELÁSQUEZ RUMAY**, interna y tesista del programa de estudios de estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego, identificada con DNI 72280567, ID 000183578, y domiciliada en Psje. Mondoñedo 249 - Huamán de la ciudad de Trujillo, departamento de la Libertad; me dirijo ante Ud. Con el debido respeto y expongo:

Por motivo de realizar mi proyecto de tesis concerniente a "Eficacia adhesiva en la microfiltración de dos adhesivos universales usando la técnica de grabado selectivo del esmalte en dientes in vitro", preciso de un termociclador con el cual pueda llevar a cabo un paso importante del proyecto anteriormente mencionado; por lo que acudo a Ud. para que me permita el acceso al laboratorio que posea dicho equipo.

Por lo expuesto, es justicia que espero alcanzar.

Atentamente



Diana Cecilia Velásquez Rumay
DNI 72280567

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
Facultad de Ciencias Biológicas
E.F. de Medicina Veterinaria

M.V. Msc. GUILLERMO LEGUÍA PUENTE
DIRECTOR (e)

CD. Gabriela Alcázar
C.O.P. 26727

ANEXO 8. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

"EFICACIA ADHESIVA EN LA MICROFILTRACIÓN DE DOS ADHESIVOS UNIVERSALES USANDO LA TÉCNICA DE GRABADO SELECTIVO DEL ESMALTE EN DIENTES IN VITRO"

A: Adhesivo Single Bond Universal – 3M

B: Adhesivo All-Bond Universal – BISCO

| PIEZA DENTARIA | GRADO DE MICROFILTRACIÓN (um) | | | |
|-------------------|-------------------------------|------------|------------|------------|
| | Adhesivo A | | Adhesivo B | |
| | En esmalte | En dentina | En esmalte | En dentina |
| 1 | 6.12 | 0.00 | 1.92 | 0.00 |
| 2 | 4.97 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 3 | 4.64 | 4.80 | 0.00 | 0.00 |
| 4 | 5.10 | 1.20 | 3.16 | 2.50 |
| 5 | 3.20 | 2.06 | 0.00 | 0.00 |
| 6 | 6.12 | 0.00 | 2.20 | 1.28 |
| 7 | 5.34 | 2.20 | 4.50 | 0.00 |
| 8 | 3.70 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 9 | 3.98 | 3.00 | 4.97 | 3.54 |
| 10 | 5.50 | 6.20 | 0.00 | 0.00 |
| 11 | 7.22 | 0.00 | 3.70 | 3.25 |
| 12 | 4.97 | 0.00 | 4.27 | 4.18 |
| 13 | 5.25 | 2.34 | 0.00 | 0.00 |
| 14 | 4.27 | 2.00 | 0.00 | 0.00 |
| 15 | 6.08 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 16 | 5.27 | 1.54 | 5.36 | 0.00 |


CD. Gabriela Alcázar Quispe
C.O.P. 28727


Sergio Albert Challoque Viteri
Licenciado en Estadística
COESPE N° 1115

ANEXO 9. AUTORIZACIÓN PARA UTILIZAR UN EQUIPO DEL LABINM

UPAO
UNIVERSIDAD PRIVADA ANTEÑOR ORREGO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Centros de Investigación

"Año de la Unidad, la Paz y el Desarrollo"

Trujillo, 14 de diciembre de 2023

OFICIO N°0368-2023-OCI-UPAO
Señor

Dr. OSCAR DEL CASTILLO HUERTAS
Director Del Programa de Estudios de Estomatología - UPAO

Presente.

**ASUNTO: AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL LABINM
REF. CARTA N°0064-2023-ESTO-FMEHU-UPAO.**

De mi especial consideración:

Mediante el presente reciba un saludo cordial, y en respuesta a la carta antes mencionada, se autoriza el ingreso de la estudiante, la Srta. **DIANA CECILIA VELÁSQUEZ RUMAY**, quien realizará trabajo de investigación en el **LABINM** de La Universidad Privada Antenor Orrego, para poder optar por el título de cirujano dentista.

Sin otro particular y agradeciendo la atención brindada al presente, es propicia la oportunidad para reiterarle los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.


Dr. José Guillermo González Cabeza
JEFE
UNIDAD DE CENTROS DE INVESTIGACIÓN




C.D. Gabriela Alcove Quispe
C.O.P. 26727

c.c.
Archivo


Trujillo
Av. América Sur 3145 Monserrate
Teléfono [+51] (044) 604444
anexas: 2034
Trujillo - Perú

ANEXO 10. CERTIFICADO DEL USO DEL ESTEREOMICROSCOPIO



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Centros de Investigación

"Año de la Unidad, la Paz y el Desarrollo"

Trujillo, 09 de octubre de 2023

El Jefe responsable de la Oficina de Centros de Investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego:

CERTIFICA

Que la **SRTA. DIANA CECILIA VELÁSQUEZ RUMAY**, identificada con DNI N° 72280567, ha empleado dentro de su experimento el microscopio estereoscópico presente en las instalaciones de la Universidad Privada Antenor Orrego, con el cuál llevo a cabo la observación de los especímenes usados en su informe de tesis.

Se le otorga el presente documento a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Atentamente,



Dr. José Guillermo González Cabeza
JEFE
UNIDAD DE CENTROS DE INVESTIGACIÓN


CD. Gabriela Alcázar Quispe
C.O.P 26727



Trujillo
Av. América Sur 3145 Monserrate
Teléfono [+51] [044] 604444
anexos: 2034
Trujillo - Perú

ANEXO 11. CERTIFICADO DEL USO DEL TERMOCICLADOR EN LA UNIVERSIDAD RICARDO PALMA



UNIVERSIDAD
RICARDO PALMA

"Año de la Unidad, la Paz y el desarrollo"

Trujillo, 02 de Octubre de 2023

El **MSC. MV. Guillermo Leguía Puente**, director de La Escuela de Medicina Veterinaria en
UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

CERTIFICA

Que la **Srta. Diana Cecilia Velásquez Rumay**, identificada con DNI N° **72280567**, ha
utilizado el equipo de termociclado presente en las instalaciones de la Universidad
Ricardo Palma, con el cual llevó a cabo el envejecimiento de las piezas dentarias que
utilizó en su proyecto de tesis.

Se le otorga el presente documento a solicitud del interesado para los fines que estime
conveniente.

Atentamente



Diana Cecilia Velásquez Rumay
DNI 72280567

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
Facultad de Ciencias Biológicas
E.P. de Medicina Veterinaria

M.V. Msc. GUILLERMO LEGUÍA PUENTE
DIRECTOR (e)

CD. Gabriela Alcave Quispe
C.O.P. 26727

ANEXO 12. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS



ANEXO 13. RESTAURACIONES EN CAVIDADES CLASE I



ANEXO 14. PROCESO DE TERMOCICLADO



ANEXO 15. TINCIÓN CON VIOLETA DE GENCIANA



ANEXO 16. OBSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS EN ESTEREOMICROSCOPIO

